



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO**

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE EXTRACTOS DE
BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) MEDIANTE EL TEST DE
HERIDAS INDUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

MARÍA DEL CARMEN AYNAGUANO REMACHE

**RIOBAMBA – ECUADOR
2014**

DEDICATORIA

*Este proyecto de tesis se la dedico
primeramente a dios pues quien ha
sido mi guía durante toda mi vida,*

*A mis queridos padres por haberme
formado y apoyado en todo sentido y
por ser una de mis principales
fuentes de inspiración para culminar
esta etapa más en mi vida.*

*A mis hermanos por apoyarme y
aconsejarme en los momentos más
difíciles en esta travesía,*

*A mis tías por ser un gran apoyo
para culminar esta meta.*

*A mis amigos por que juntos
cruzamos este arduo camino lleno de
altos y bajos y juntos pudimos salir.*

*A mis maestros por compartirme sus
conocimientos.*

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y sus Autoridades por trabajar correctamente por el beneficio de la juventud.

A mis padres Daniel y María por haberme dado todo lo necesario para culminar mi carrera.

A la Dra. Susana Abdo por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente tesis.

Al Dr. Francisco Portero por la guía y el aporte brindado como colaborador en la presente investigación

A Vanesa Chimbo y Gabriela Cabezas por ser mi compañía pues juntas desarrollamos nuestras respectivas tesis, apoyándonos y superando juntas los momentos más difíciles que hubo al desarrollar la presente investigación.

A mis amigas que me han brindado su amistad y apoyo durante mi vida estudiantil y en desarrollo de este proyecto.

A todas aquellas personas quienes colaboraron con el desarrollo de esta investigación.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DE EXTRACTOS DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) MEDIANTE EL TEST DE HERIDAS INDUCIDAS EN RATONES (*Mus musculus*)”**, de responsabilidad de la Srta. Egresada Maria del Carmen Aynaguano Remache, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Ing. César Avalos.

DECANO FAC. CIENCIAS

Dra. Ana Albuja.

**DIRECTOR DE ESCUELA DE
BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

Dra. Susana Abdo.

DIRECTORA DE TESIS

Dr. Francisco Portero

MIEMBRO DE TRIBUNAL

**COORDINADOR ENCARGADO
DE SISTEMA DE BIBLIOTECA**

NOTA DE TESIS ESCRITA

Yo, Maria del Carmen Aynaguano Remache, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

Maria del Carmen Aynaguano Remache

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad cicatrizante de extractos de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) mediante el test de heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*) realizada en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, con el fin de contribuir a la sociedad nuevas alternativas cicatrizantes de origen natural.

Para lo cual se realizaron pruebas para el control de calidad del vegetal y del extracto que se utilizó para evaluar el efecto cicatrizante de la Bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) en ratones, se utilizó 21 ratones escogidos aleatoriamente divididos en 7 grupos de 3 ratones, a los cuales se les realizó heridas de 2 cm de longitud por 2 mm de profundidad, se les aplicó distintos tratamientos, evaluando tiempo de cicatrización, longitud y ancho de la cicatriz; los resultados obtenidos fueron analizados mediante los test Anova y Tukey con intervalo de 95% confianza, posterior a su análisis físico de las cicatrices se tomaron muestras de las pieles para su posterior análisis microscópico para medir la regeneración celular de las heridas.

En el análisis físico-químico del extracto hidroalcohólico se obtuvo una densidad relativa de 0,9501 g/ml, pH de 6.59, índice de refracción de 1,34 y un 4,2% de sólidos totales, en el análisis cualitativo se determinó que el vegetal tiene en mayor cantidad taninos, flavonoides, saponinas y compuestos triterpenicos. Mediante el análisis de los test aplicados dio como resultado que los tratamientos con Lamoderm y extracto hidroalcohólico al 80% tienen un efecto cicatrizando similar siendo los más efectivos.

En conclusión el extracto hidroalcohólico de *Capsella bursa-pastoris* es eficaz en el proceso de cicatrización por uso tópico. Se recomienda aplicar este vegetal en la industria cosmética para la elaboración de cremas o geles con propiedades cicatrizantes y emulsificantes por su alto contenido en saponinas, siendo también utilizable en la industria de alimentos.



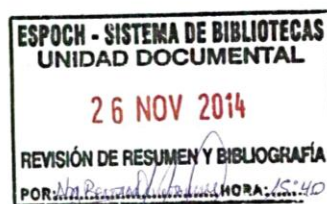
SUMMARY

The present investigation had as aim to evaluate the cicatrizing activity of extracts of Shepherd's purse (*Capsella bursa-pastoris*), by means of the test of induced injuries in mice (*Mus musculus*) made in the Vivarium of the Science Faculty of the Higher School Polytechnic of Chimborazo, in order to contribute to the society with new healing alternatives from natural origin.

For this reason, tests were made to control the vegetal quality and the extract that was used to evaluate the healing effect of the Shepherd's purse (*Capsella bursa-pastoris*) in mice, these were used chosen randomly, divided into 7 groups of 3 mice to which 3 injuries were made of 2 cm of longitude roughly by 2mm of depth, then it was applied different treatments, evaluating the healing time, longitude and wide of the wound; the outcomes obtained were analyzed through the test Anova and Tukey with interval of 95% of trust, afterwards to its physical analysis of the wounds were taken samples of the skins for finally analyse it by microscope to gauge the cellular regeneration of the hurts.

Within the physical – chemical analysis of the hydro-alcoholic extract was obtained a relative density of 0,9501 g/ml, pH of 6.59, refraction index of 1,34 and 4,2% of total solids, in the qualitative analysis was determined that the vegetal has a bigger quantity of tannins, flavonoids, saponins, and triterpenic composes. Through the analysis of the tests applied gave as a result that the treatments with Lamoderm and hydro-alcoholic extract to 80% have a healing effect similar being the most effectives.

In conclusion, the hydro-alcoholic extract of *Capsella bursa-pastoris* is effective in the healing process for topic use. It is recommended to apply this vegetal in the cosmetic industry, due to its high content in saponins, being also useful in the food industry.



ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 Piel	1
1.1.1 Definición.....	1
1.1.2 Estructura de la piel	1
1.1.2.1 Epidermis	2
1.1.2.2 Dermis	3
1.1.2.3 Hipodermis	4
1.1.3 Funciones de la piel	4
1.2 Herida	5
1.2.1 Concepto	5
1.2.2 Tipos de heridas.....	6
1.2.2.1 Según el agente agresor.....	6
1.2.2.2 Según su profundidad	6
1.2.2.3 Según su complejidad	6
1.2.2.4 Según el riesgo de infección.....	6
1.3 Cicatrización	7
1.3.1 Etiología	7
1.3.2 Tipos de cicatrización de las heridas	8
1.3.2.1 Cierre Primario	8
1.3.2.2 Cierre por Segunda intención	9

1.3.2.3 Cicatrización por Tercera intención.....	10
1.3.3 Fases del de la cicatrización.....	10
1.3.3.1 Fase Inflamatoria	11
1.3.3.2 Fase de Proliferativa	14
1.3.3.3 Fase de maduración y remodelación.....	18
1.3.4 Factores que influyen en la cicatrización	18
1.4 Fitoterapia	19
1.5 Plantas Medicinales	20
1.5.1 Principio Activo.....	20
1.6 Bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>).....	20
1.6.1 Nombre común.....	20
1.6.2 Nombre científico	21
1.6.3 Clasificación Taxonómica.....	21
1.6.4 Etimología.....	21
1.6.5 Hábitat	22
1.6.6 Descripción Botánica.....	22
1.6.7 Principales componentes de la <i>Capsella bursa-pastoris</i>	22
1.6.8 Usos de la planta.....	23
1.6.8.1 Usos medicinales	23
1.6.9 Efectos tóxicos	24
1.6.10 Contraindicaciones	24
1.6.11 Preparaciones farmacológicas.....	25
1.7 Extracto sólido líquido	25
1.7.1 Extracto hidroalcohólico, tintura madre	25
1.8 Maceración	26
1.8.1 Maceración en frío	26
1.8.2 Maceración en calor	26
1.8.3 Variables de Extracción	27
1.9 Filtración	27

1.9.1 Tipos de Filtración.....	27
1.10 Metabolitos secundarios relacionados con el proceso de cicatrización.....	28
1.10.1 Taninos.....	28
1.10.1.1 Usos medicinales	28
1.10.2 Flavonoides	29
1.10.2.1 Aplicación de los flavonoides en la salud	29
1.10.2.2 Efectos sobre el ser humano	30
1.11 Eterol.....	32
1.12 Lamoderm	32
1.13 Animales de experimentación	33
1.13.1 El ratón como animal de laboratorio	33
CAPÍTULO II	
2. PARTE EXPERIMENTAL	34
2.1 Lugar de investigación.....	34
2.2 Materiales, equipos y reactivos	34
2.2.1 Planta en estudio.....	34
2.2.2 Reactivo biológico.....	35
2.2.3 Equipos, materiales y reactivos para el análisis de la materia prima	35
2.2.3.1 Equipos.....	35
2.2.3.2 Materiales	36
2.2.3.3 Reactivos	36
2.3. Métodos y técnicas	37
2.3.1 Recolección de la Materia Prima (vegetal)	37
2.3.2 Obtención de los extractos para determinar la presencia de metabolitos secundarios	37
2.3.3 Extracción de los metabolitos secundarios de la bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>) para el estudio farmacológico (EXTRACTO HODROALCOHÓLICO) ...	39
2.3.4 Control de calidad del vegetal.....	40
2.3.5 Tamizaje fitoquímico	40
2.3.6 Control de calidad del extracto hidroalcohólico	42

2.4 Análisis cromatográfico	43
2.5 Cuantificación espectrofotométrica para flavonoides totales expresado como porcentaje de rutina	43
2.6 Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos (micro método de Folin-Ciocalteu)	44
2.7 Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>).....	45
2.7.1 Etapa 1: período de ambientación	46
2.7.2 Etapa 2: modelo experimental	47
2.7.3 Etapa 3: producción de las heridas en los dorsos de los ratones	48
2.7.4 Etapa 4: tratamiento.....	48
2.8 Evaluación de efectos negativo de los extractos	50
2.9 Examen histopatológico	50
CAPÍTULO III	
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
3.1 Control de la calidad de la materia prima o vegetal	51
3.2 Tamizaje fitoquímico realizado al vegetal.....	52
3.3 Control de calidad del extracto hidroalcohólico de Bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>)	53
3.3.1 Determinación de requisitos organolépticos del extracto hidroalcohólico	54
3.3.2 Determinación de parámetros físicos del extracto hidroalcohólico	54
3.4. Análisis cromatográfico	55
3.5 Cuantificación de flavonoides totales (método del $AlCl_3$)	56
3.6 Cuantificación de compuestos fenólicos (micro método de Folin-Ciocalteu)	57
3.7 Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de Bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>) en ratones (<i>Mus musculus</i>)	58
3.7.1 Tiempo de cicatrización.....	58
3.7.2 Variacion de las longitudes de las heridas luego de aplicado los tratamientos...	59
3.8 Analisis estadístico de los resultados obtenidos	60
3.8.1 ANOVA de un factor para los días de cicatrizacion	60
3.8.2 ANOVA de un factor para las longitudes de las cicatrices	62

3.9 Analisis histopatologico.....	65
CAPÍTULO IV	
4. CONCLUSIONES	68
CAPÍTULO V	
5. RECOMENDACIONES.....	69
BIBLIOGRAFIA.....	70
CAPITULO VI	
6. ANEXOS	77

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Ac.	Ácido
Cm	Centímetros
G	Gramos
Kg	Kilogramo
Mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetros
pH	Potencial de hidrógeno
Ppm	Partes por millón
Rf	Factor de retención
T	Temperatura
TLC	Cromatografía en capa fina
UV	Ultravioleta
%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
μL	Microlitros

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No. 1	Tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios.....	41
TABLA No. 2	Codificación de los grupos que fueron utilizados en la investigación	47

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No. 1	Resultados del control de calidad de la droga cruda bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de Ciencias. Epoch. Marzo 2014	51
CUADRO No. 2	Resultados del Análisis cualitativo (tamizaje fitoquímico) bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de Ciencias. Epoch. Abril 2014	52
CUADRO No. 3	Análisis organoléptica del extracto hidroalcohólico de Bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>). Laboratorio de fitoquímica. Facultad de Ciencias. Epoch. Abril 2014	54
CUADRO No. 4	Determinación de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>). Laboratorio de fitoquímica. Epoch. Abril 2014.....	54
CUADRO No. 5	Determinación de la concentración de flavonoides totales expresados en µg de catequina/ g de muestra en el extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>). Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. Mayo 2014	56
CUADRO No. 6	Determinación de la concentración de compuestos fenólicos totales expresados en µg de ácido gálico/ g de muestra en el extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>). Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. Mayo 2014.....	57
CUADRO No. 7	Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>) en ratones evaluado mediante los días de cicatrización de cada uno de los grupos experimentales. Bioterio. Facultad de ciencias. Epoch. Junio 2014.....	58
CUADRO No. 8	Actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>) en ratones evaluado mediante las longitudes de las cicatrices de cada uno de los grupos experimentales. Bioterio. Facultad de ciencias. Epoch. Junio 2014	59
CUADRO No. 9	Análisis estadístico realizado a los resultados obtenidos de las aplicaciones de los tratamientos en los grupos experimentales tomando en consideración los días de cicatrización. Bioterio de la facultad de ciencias. Epoch. junio 2014	60
CUADRO No. 10	Análisis estadístico de los resultados obtenidos de las aplicaciones de los tratamientos en los grupos experimentales tomando en consideración los días que demora en cicatrizar cada tratamiento mediante el test de tukey. Bioterio de la facultad de ciencias. Epoch. Junio 2014	61
CUADRO No. 11	Análisis estadístico realizado a los resultados obtenidos de las aplicaciones de los tratamientos en los grupos experimentales midiendo la longitud de las cicatrices. Bioterio de la facultad de Ciencias. Epoch. junio 2014.....	62
CUADRO No. 12	Análisis estadístico de los resultados obtenidos en el efecto farmacológico del extracto de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-</i>	

	<i>pastoris</i>) midiendo las longitudes de las cicatrices mediante el test de Tukey. Bioterio de la facultad de ciencias. Espoch. Junio 2014	63
CUADRO No. 13	Protocolo histopatológico de la piel de ratones (<i>mus musculus</i>) a los cuales se administró extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>) bioterio de la Facultad de Ciencias. Espoch. Julio 2014	65
CUADRO No. 14	Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales usando catequina como patrón en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Laboratorio de química instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. Septiembre del 2013	77
CUADRO No. 15	Curva de calibración para la cuantificación de compuestos fenólicos totales usando ácido gálico como patrón en concentraciones de 500, 800, 1 100, 1 400, 1 700 y 2 000 ppm. Laboratorio de química instrumental. Facultad de ciencias. Espoch. julio del 2013	78

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO No. 1	Representación del promedio de los días de cicatrización con respecto a los tratamientos aplicados. Facultad de ciencias Epoch. Junio 2014.	62
GRÁFICO No. 2	Representación del promedio de las longitudes de las cicatrices con respecto a los tratamientos aplicados. Facultad de ciencias. Epoch. junio 2014	64
GRÁFICO No. 3	Curva de absorbancia vs concentración de rutina en concentraciones de 20, 40, 60, 80 y 100 ppm, para la cuantificación de flavonoides totales. Laboratorio de química instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. septiembre del 2013	77
GRAFICO No. 4	Curva de absorbancia vs concentración de ácido gálico en concentraciones de 500, 800, 1 100, 1 400, 1 700 y 2 000 ppm para la cuantificación de compuestos fenólicos totales. Laboratorio de química instrumental. Facultad de ciencias. Epoch. julio del 2013	78

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA No. 1	Estructura de la piel	2
FIGURA No. 2	Cierre primario de una herida	9
FIGURA No. 3	Cierre por segunda intención de una herida.....	9
FIGURA No. 4	Componentes del proceso de cicatrización	10
FIGURA No. 5	Inflorescencia de <i>Capsella bursa-pastoris</i>	20
FIGURA No. 6	Esquema para la realización de los extractos en distintos solventes para su posterior análisis fitoquímico	39
FIGURA No. 7	Cromatografía de capa fina del extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>Capsella bursa-pastoris</i>) realizado en el laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. Espoch. mayo 2014	55
FIGURA No. 8	Reacción de Folin-Ciocalteu	79

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA No. 1	Pruebas del tamizaje fitoquímico	79
FOTOGRAFÍA No. 2	Prueba de Fehling del extracto alcohólico.....	79
FOTOGRAFÍA No. 3	Prueba de Baljet del extracto alcohólico	79
FOTOGRAFÍA No. 4	Prueba de Borntrager del extracto alcohólico	80
FOTOGRAFÍA No. 5	Prueba de L- Buchard del extracto alcohólico	80
FOTOGRAFÍA No. 6	Prueba del FeCl_3 del extracto alcohólico	80
FOTOGRAFÍA No. 7	Prueba de saponinas del extracto alcohólico	80
FOTOGRAFÍA No. 8	Prueba de Shinoda del extracto alcohólico	80
FOTOGRAFÍA No. 9	Prueba de Dragendorff del extracto alcohólico	80
FOTOGRAFÍA No. 10	Prueba de Mayer del extracto alcohólico	81
FOTOGRAFÍA No. 11	Prueba de Wagner del extracto alcohólico	81
FOTOGRAFÍA No. 12	Prueba de Catequinas del extracto alcohólico	81
FOTOGRAFÍA No. 13	Prueba de Resinas del extracto alcohólico	81
FOTOGRAFÍA No. 14	Prueba del FeCl_3 en el extracto acuoso	81
FOTOGRAFÍA No. 15	Prueba de Dragendorff en el extracto acuoso	81
FOTOGRAFÍA No. 16	Prueba de Mayer en el extracto acuoso	82
FOTOGRAFÍA No. 17	Prueba de Wagner en el extracto acuoso	82
FOTOGRAFÍA No. 18	Prueba de saponinas en el extracto acuoso	82
FOTOGRAFÍA No. 19	Prueba de Fehling en el extracto acuoso	82
FOTOGRAFÍA No. 20	Prueba de Shinoda en el extracto acuoso	82
FOTOGRAFÍA No. 21	Determinación del Ph del extracto hidroalcohólico	83
FOTOGRAFÍA No. 22	Determinación del índice de refracción del extracto hidroalcohólico.....	83
FOTOGRAFÍA No. 23	Determinación de la densidad del extracto hidroalcohólico.....	83
FOTOGRAFÍA No. 24	Determinación de los sólidos totales del extracto hidroalcohólico.....	83
FOTOGRAFÍA No. 25	Procedimiento para reacción de coloración (FOLIN-CIOCALTEAU) para su posterior lectura al espectrofotómetro	84
FOTOGRAFÍA No. 26	Procedimiento para la reacción de coloración (AlCl_3) para su posterior lectura al espectrofotómetro	84
FOTOGRAFÍA No. 27	Rasurada del área dorsal del ratón y realización de las heridas en dicha zona.....	85
FOTOGRAFÍA No. 28	Dilución del extracto madre y preparación de los distintos tratamientos a aplicar.....	85
FOTOGRAFÍA No. 29	aplicación de tratamiento vía tópica y su posterior cicatrización	85
FOTOGRAFÍA No. 30	Vista al microscopio de las pieles tratadas con los extractos al 20%, 40%, 80% respectivamente	86

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No. 1	Elaboración de la curva de calibración de catequina como patrón para la cuantificación de flavonoides totales	77
ANEXO No. 2	elaboración de la curva de calibración del ácido gálico como patrón para la cuantificación de compuestos fenólicos	78
ANEXO No. 3	reacción de folin-cicateaul	79
ANEXO No. 4	tamizaje fitoquímico de los extractos de bolsa de pastor (<i>capsella bursa-pastoris</i>)	79
ANEXO No. 5	Determinación de parámetros físicos del extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (<i>capsella bursa-pastoris</i>)	83
ANEXO No. 6	Cuantificación de compuestos fenólicos método de folin-ciocalteau	84
ANEXO No. 7	Cuantificación de flavonoides totales método del $AlCl_3$	85
ANEXO No. 8	Actividad cicatrizante	85
ANEXO No. 9	Análisis Histopatológico	86

INTRODUCCIÓN

En la actualidad las plantas son muy utilizadas para la prevención de múltiples enfermedades que aquejan nuestra sociedad así por ejemplo para la prevención del cáncer y de la hipertensión se utilizan frutas vegetales e infusiones de las mismas ya que son ricas en sustancias antioxidantes de forma natural, de la misma manera se utilizan para uso externo ya sea para aliviar una patología dérmica o por estética.

La organización mundial de la salud desde 1975, reconoce la importancia de la medicina tradicional y han tomado medidas de prevención para los países en vías de desarrollo para prevenir efectos adversos que tienen el uso y abuso de ciertas plantas.

Si bien la medicina moderna está bien desarrollada en la mayor parte del mundo, gran parte de los sectores de la población en los países en vías de desarrollo todavía dependen de la medicina tradicional. En nuestro país mucha de la flora nativa e introducida es aprovechada por las personas de forma empírica, pues solo una pequeña cantidad de plantas han sido estudiadas como principales fuentes de principios activos para la elaboración de nuevos fármacos, esto se puede evidenciar en los datos que se disponen de seguridad y eficacia de las plantas, que son aun en número menor con respecto al número de plantas que hay en el Ecuador.

Las principales causas que acentúan el constante y extenso uso de fitofármacos entre los ecuatorianos son: la carencia de un sistema oficial de salud enfocado en el conocimiento médico ancestral, y la baja economía pues son de bajo poder adquisitivo

La cicatrización de heridas es un factor quirúrgico que hoy en día llama mucho la atención pues se concentran en la búsqueda de nuevos agentes cicatrizantes, pues la heridas son comunes en nuestra vida cotidiana ya que nos podemos herir con objetos simples como papel, un cuchillo al momento de preparar nuestros alimentos o hasta algo más grave como es las heridas producidas por cirugías como efecto colateral de sufrir otra patología como apendicitis.

La función principal de la fitoterapia en el tratamiento de las cicatrices se centra en el proceso de cicatrización y supone la utilización de una serie de plantas que tiene como objetivo fundamental: desinflamar la herida, favorecer la cicatrización al incrementar la regeneración celular, impedir las infecciones bacterianas en heridas producidas por quemaduras, cortes, acné, etc.

A partir de los antecedentes antes mencionados, esta investigación va encaminada al estudio de plantas con actividad cicatrizante para así poder mejorar este proceso en heridas recientes, y obtener una alternativa medicinal con plantas existentes en nuestro medio como es la Bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*), la misma que además de ser cicatrizante también es diurética y astringente.

Por lo tanto en el presente proyecto de investigación tiene como objetivos obtener los extractos hidroalcohólicos de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*), realizar el control de calidad del vegetal y del extracto hidroalcohólico, comprobar el efecto cicatrizante del extracto en ratones (*Mus musculus*).

CAPÍTULO I

1 PARTE TEÓRICA

1.1 PIEL

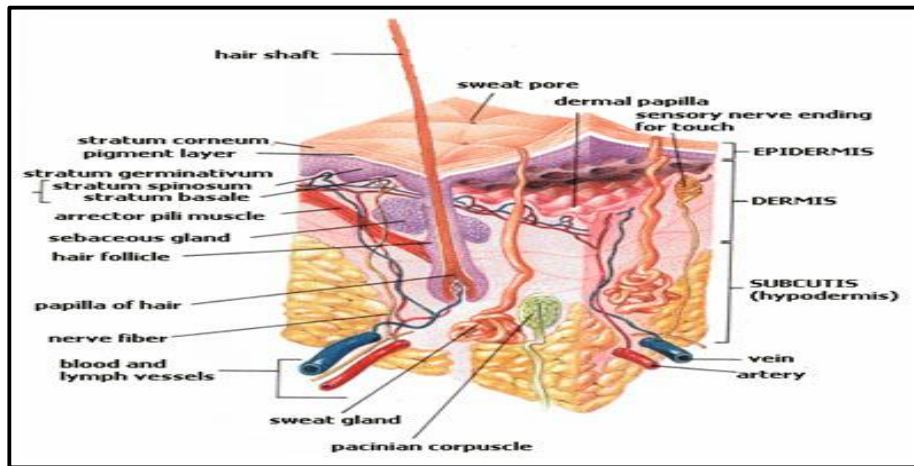
1.1.1 DEFINICIÓN:

La piel recubre por completo la superficie corporal pues es el mayor órgano del cuerpo humano, o animal. Ocupa aproximadamente 2 m², y su espesor varía entre los 0,5 mm (en los párpados) a los 4 mm (en el talón). Su peso aproximado es de entre 4,5 a 5 kg lo que supone aproximadamente el 6% del peso corporal. Actúa como barrera protectora elástica y fuerte capaz de auto-regenerarse, contra las influencias externas: mecánicas, químicas y físicas. Además contiene nervios que llevan los mensajes del sentido del tacto y del dolor. Es esencial para el mantenimiento del equilibrio de fluidos y el equilibrio térmico. (GUILLAMENT, A. 1999)(ARIAS, J. 1999)

1.1.2 ESTRUCTURA DE LA PIEL

Desde afuera hacia dentro, se distinguen tres capas de tejido, cuyo origen embriológico es totalmente distinto, perteneciendo cada capa a una capa embriológica diferente (GUILLAMENT, A. 1999)

- La epidermis.
- La dermis o corion.
- El tejido subcutáneo o también denominado hipodermis. (GUILLAMENT, A. 1999)



FUENTE: <http://ecolucionamalaga.wordpress.com/author/ecolucionapage/3/>

FIGURA N°- 1: ESTRUCTURA DE LA PIEL

1.1.2.1 Epidermis

La epidermis es la capa más externa de la piel, su origen embriológico es en el ectodermo superficial. Constituida por epitelio estratificado plano queratinizado. Es la capa de la piel con mayor número de células y con una dinámica de recambio extraordinariamente grande. Presenta un espesor variable, con un valor medio de 0,1 mm, pudiendo alcanzar en zonas como las plantas de los pies y las palmas de las manos espesores de hasta 1 ó 2 mm. Es la capa de la piel más externa. (OROZCO, M. 2012)

Esta capa esta a su vez formada por otras cinco capas o estratos de células que son:

- Estrato corneo
- Estrato lucido
- Estrato Granulosos
- Estrato espinoso
- Estrato basal o germinativo. (OROZCO, M. 2012)

a. Funciones de la epidermis:

- Protección y aislamiento.
- Producción de Melanina, pigmento que da color a la piel y protección frente a los rayos Ultra Violetas del sol. Las personas que carecen de este pigmento se llaman

Albinos. Las personas que viven en lugares con muchas horas de sol, genéticamente producen más melanina, y tienen la piel más oscura. (OROZCO, M. 2012)

- Participar en las respuestas de inmunidad del organismo. (REDROVAN, K. 2014)

1.1.2.2 Dermis

La dermis tiene su origen embrionario en el mesodermo, es la estructura de soporte de la piel y le proporciona resistencia y elasticidad. Constituye la mayor parte de la piel y su grosor es variable de 1-4 mm según su localización. Se sitúan en ella estructuras celulares, vasculares, nerviosas y los llamados “anejos cutáneos” (pelos, glándulas sudoríparas y sebáceas). (SANTAMARIA, E. 2013)

La matriz extracelular contiene una elevada proporción de fibras, no muy compactadas, de colágeno (>75%), elastina y reticulina. (TRISTAN, A 2009)

Es un tejido vascularizado que sirve de soporte y alimento a la epidermis ya que esta es a vascular mediante una función mecánica. (SANTAMARIA, E. 2013)

Histológicamente está constituido básicamente por tejido conectivo fibroelástico; se divide en dos capas, que desde el exterior al interior son:

- La capa papilar (stratum papillare).- Esta capa recibe ese nombre por la presencia de proyecciones hacia el interior de la epidermis, estas proyecciones se denominan papilas dérmicas y se alternan con los procesos interpapilares de la epidermis. En las papilas se encuentran las asas capilares (sistema circulatorio) que proporcionan los nutrientes a la epidermis avascular. La capa papilar también contiene numerosas terminaciones nerviosas, receptores sensoriales y vasos linfáticos. (SANTAMARIA, E. 2013)
- La capa reticular (stratum reticulare).- Esta capa es más gruesa que la papilar, y recibe ese nombre por el entramado o retícula de las fibras colágenas que forman gruesos haces entrelazados con haces de fibras elásticas. (SANTAMARIA, E. 2013)

1.1.2.3 Hipodermis

La hipodermis conocida también como panículo adiposo o tejido celular subcutáneo, está formado por tejido adiposo (adipocitos) y conjuntivo. (ARIAS, J. 1999)

La hipodermis tiene un objetivo específico que es el de defensa pues amortigua los traumatismos bajo la piel. Además presenta la reserva energética más importante del cuerpo pues en esta capa se almacena y libera ácidos grasos. Su grosor varía de persona a persona según su estado físico. Es el soporte de vasos sanguíneos y nervios que pasan desde los tejidos subyacentes hacia la dermis. Los folículos pilosos y glándulas sudoríparas se originan en este nivel. (ARIAS, J. 1999)

1.1.3 FUNCIONES DE LA PIEL

La piel no es sólo una cobertura fina y sencilla que mantiene al organismo unido proporcionándole protección. Además de ello, realiza varias funciones esenciales para la vida.

Termorreguladora: Es el principal elemento para la regulación de la temperatura corporal, conservando el calor mediante vasoconstricción y con su propia estructura anatómica aislante (especialmente la grasa hipodérmica), enfría mediante la vasodilatación y evaporación del sudor. (ROBALINO, C. 2014)

Protección: cubre al organismo y proporciona una barrera física que protege a los tejidos subyacentes de la abrasión física mediante la capa cornea, la invasión bacteriana mediante la renovación celular de la capa cornea la secreciones glandulares y la flora que es propia de la piel, la radiación ultravioleta mediante la melanina que produce, mecánicas mediante la capa lipídica que amortigua los golpes, química mediante la capa cornea por su propiedad impermeable prohibiendo que se absorban sustancias tóxicas. (TRISTAN, A 2009)

Sensibilidad: contiene abundantes terminaciones nerviosas y receptoras que detectan los estímulos relacionados con la temperatura, el tacto, la presión y el dolor. (ROBALINO, C. 2014)

Equilibrio hidroeléctrico: cuando el cuerpo es sometido a elevadas temperaturas el cuerpo tiende a sudar eliminándose una cierta cantidad de agua y pequeñas cantidades de sales y de varios compuestos orgánicos. (SANTAMARIA, E. 2013)

Inmunológica: determinadas células de la epidermis son componentes importantes del sistema inmune pues liberan sustancias importantes en la respuesta inmunitaria. (LEYVA, F. 2009)

Reservorio de sangre: la dermis de la piel alberga una amplia red de vasos sanguíneos. (RIOFRIO, K. 2014)

Metabólica: Interviene en la síntesis de la vitamina D a partir del 7-deihidrocolesterol, contenido en los queratinocitos y gracias a la luz ultra violeta es convertido en colecalciferol y es transportada a todo el organismo por vía sanguínea. (LEYVA, F. 2009)

Función de lubricación y reparación de heridas. (LEYVA, F. 2009)

Relación: pues la piel puede percibir múltiples estímulos gracias a las terminaciones nerviosas y receptores especializados. (LEYVA, F. 2009)

1.2 HERIDA

1.2.1 CONCEPTO

Se denomina herida a la pérdida de continuidad en la piel mediante un traumatismo este traumatismo puede ser provocado por agentes químicos y físicos. (CALNE, Z. 2008)

Desde un punto de vista conceptual, las heridas se definen como traumatismos mecánicos abiertos. Es decir, una herida es el efecto producido por un agente externo que actúa de manera brusca sobre una parte de nuestro organismo, superando la resistencia de los tejidos sobre los que incide, produciendo una rotura de la superficie cutánea o mucosa. (CALNE, Z. 2008)

La lesión puede ocurrir por cualquier tipo de fuerzas mecánicas o térmicas que rompen la piel y dañan el tejido conjuntivo y los vasos. (RAMIREZ, G. 2010)

1.2.2 TIPOS DE HERIDAS

Hay muchas maneras de clasificar a las heridas entre las cuales tenemos:

1.2.2.1 Según el agente agresor:

- Herida incisa.
- Herida contusa.
- Herida punzante.
- Herida mixta. (RAMIREZ, G. 2010)

1.2.2.2 Según su profundidad:

- Arañazo.
- Desolladura.
- Herida perforante.
- Herida por empalamiento. (RAMIREZ, G. 2010)

1.2.2.3 Según su complejidad:

- Herida simple o superficial.
- Herida profunda o compleja. (RAMIREZ, G. 2010)

1.2.2.4 Según su riesgo de infección:

- Herida no infectada.
- Herida infectada. (RAMIREZ, G. 2010)

1.3 CICATRIZACIÓN

La cicatrización es el proceso normal que se presenta en los seres humanos y animales para regenerar el tejido epidérmico y dérmico. Cuando un individuo presenta una herida (ruptura de un tejido intencional o accidental), una serie de eventos bioquímicos complejos se presenta para reparar el tejido dañado. (TRISTAN, A 2009)

Estos eventos se superponen entre sí temporalmente, pero para comprenderlos mejor, los explicaremos en pasos separados así: etapa inflamatoria, etapa proliferativa, y fases de remodelación. (REINALDO, I. 2011)

1.3.1 ETIOLOGÍA

La producción de heridas es múltiple, entre las más comunes están las provocadas por caídas accidentales, accidentes de tráfico, en el trabajo, al realizar deporte, con objetos como son arma blanca, revolver, al realizar una cirugía (herida quirúrgica) o simplemente una mordedura. (TRISTAN, A 2009)

Según el mecanismo q los provocan nos muestran si los tejidos han sido arrancados o contundidos o si pude haber cuerpos extraños como vidrios agujas, etc. (REINALDO, I. 2011)

Las heridas por mordeduras humanas y animales se caracterizan por arrancamientos parciales o totales, bordes contundidos, contaminación polimicrobiana aerobia y anaerobia y necesitar reconstrucción posterior con frecuencia. (RAMIREZ, G. 2010)

Las heridas por arma de fuego no son sistematizables, suelen tener bordes irregulares, imprecisos y pérdida de tejidos, presencia de cuerpos extraños y lesiones asociadas como quemaduras en el orificio de entrada si éste se realiza a corta distancia. (RAMIREZ, G. 2010)

1.3.2 TIPOS DE CICATRIZACIÓN DE LAS HERIDAS

Podemos mencionar tres tipos de cicatrización tomando en cuenta la forma que tenga y el periodo de cicatrización. (TRISTAN, A 2009)

- El cierre primario,
- El cierre secundario o por segunda intención
- El cierre terciario o también llamado primario diferido. (TRISTAN, A 2009)

1.3.2.1 Cierre Primario

Este tipo de cicatrización es aquella que se produce de forma inmediata, es la mejor manera para curar una herida pues se puede obtener una mejor cicatriz y en menos tiempo, se realiza dentro de 24 horas, de lo posible cuando aun no esté contaminada pudiendo así obtener una cicatriz con bordes regulares que permita un aceptable cierre de la misma. (RAMIREZ, G. 2010)

Hay varios factores que impiden que se realice un cierre primario. Especialmente la probabilidad de que la herida se infecte. Esta infección depende de muchos factores entre ellos podemos mencionar el tipo de persona que tiene la herida, la concentración bacteriana y que tan patógeno es el microorganismo que causa la infección. Por esta razón para que se dé una cicatrización por cierre primario debe cumplir las siguientes características: (REINALDO, I. 2011)

- Que tenga el mínimo edema
- Sin separación de los bordes de la herida
- Con mínima formación de cicatriz
- sin infección local o secreción abundante. (REINALDO, I. 2011)

Este tipo de cicatrización se da en heridas que se producen por cirugías

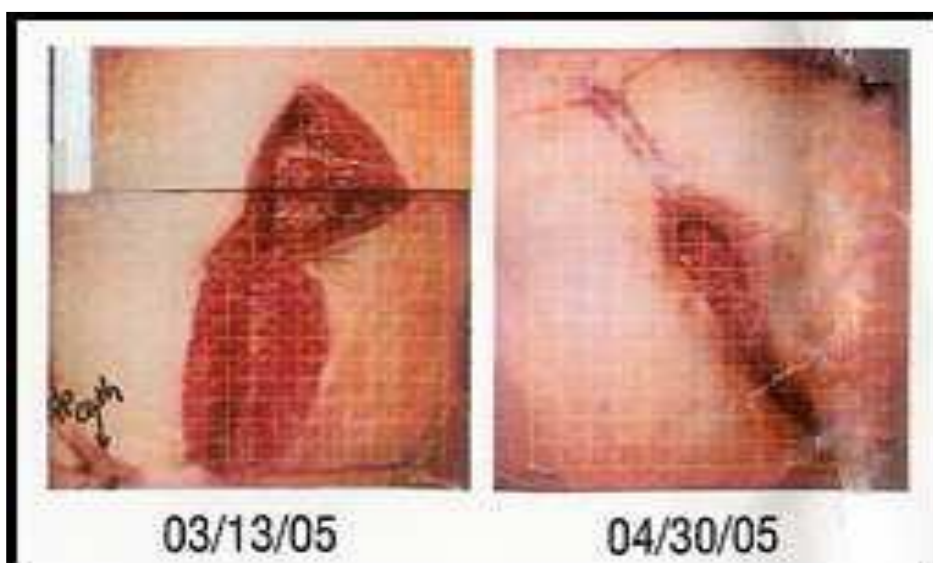


FUENTE: <http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed27.pdf>

FIGURA N°.- 2 CIERRE PRIMARIO DE UNA HERIDA

1.3.2.2 Cierre por Segunda Intención

En este tipo de cicatrización la herida no se cierra formalmente, es decir q se cierra de manera espontaneas por contracción y reepiteliarizacion, por esta razón este tipo de heridas tienen algunos efectos adversos para el paciente como son: tardan mucho en cicatrizar la cicatriz es mucho más grande y por ende menos agradable a la vista. Son especialmente las heridas profundas y grandes o en heridas con un alta probabilidad de infección dependiendo la zona puede haber la presencia de pus, dolor al tacto, peritonitis. (CAMPOS, G. 2012) (REINALDO, I. 2011)



FUENTE: <http://sibdi.ucr.ac.cr/boletinespdf/cimed27.pdf>

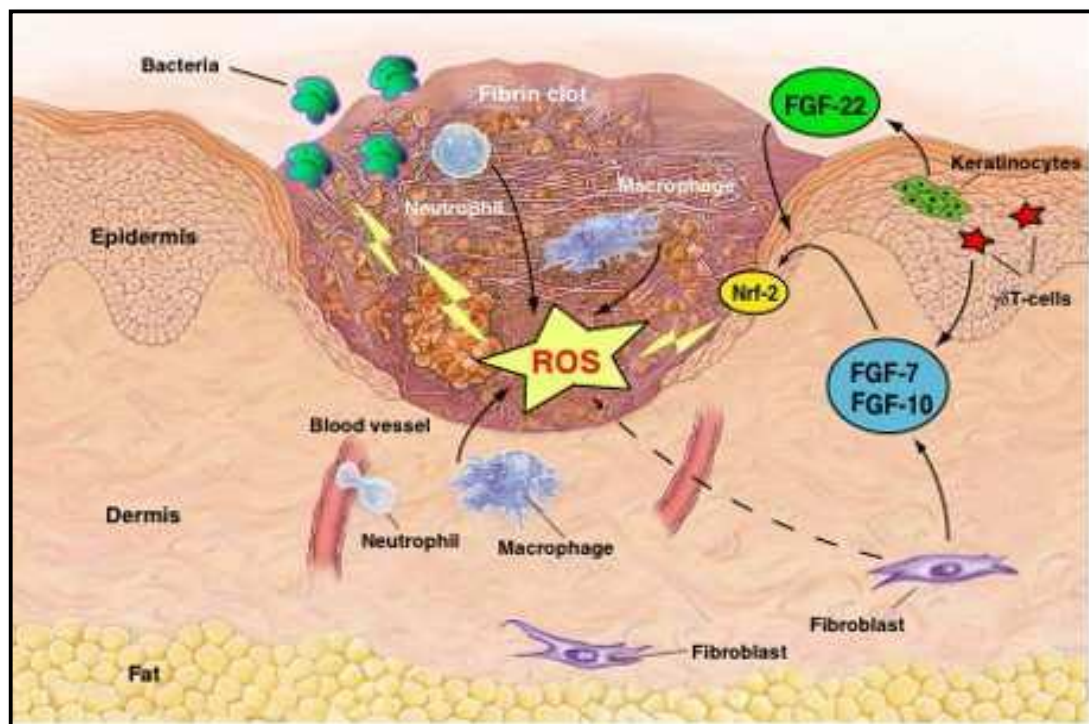
FIGURA N°- 3 CIERRE POR SEGUNDA INTENCIÓN DE UNA HERIDA

1.3.2.3 Cicatrización por Tercera Intención

Este tipo de cicatrización también conocido como cierre primario diferido, ocurre cuando dos superficies de tejido de granulación son aproximadas, incluye desbridamiento inicial de la herida y curaciones por un período extendido en una herida que se deja abierta y luego al tiempo cierre formal generalmente con suturas, u otro mecanismo este método es aplicable en heridas sucias e infectadas con pérdida extensa de tejido. (SOCIEDAD ARGENTINA DE DERMATOLOGÍA. 2007)

Incluye las heridas infectadas que no pudieron ser cerradas inicialmente y que cuando se ha controlado completamente el proceso infeccioso, se cierran intencionalmente. Es posible que este cierre requiera la resección de un poco del tejido de granulación para permitir el afrontamiento de los bordes y posterior cierre con hilos de sutura. (REINALDO, I. 2011)

1.3.3 FASES DE LA CICATRIZACIÓN



Fuente: lamedicinaquirurgica.blogspot.com/2011_05_01_archive.html

FIGURA N°- 4 DIAGRAMA QUE ILUSTRAS LOS COMPONENTES DEL PROCESO DE CICATRIZACIÓN

La cicatrización de una herida se da en tres fases bien definidas que son:

- Fase Inflamatoria
- Fase de Proliferación
- Fase de maduración y remodelado. (REINALDO, I. 2011)

1.3.3.1 Fase inflamatoria

Durante esta fase ocurre un proceso de coagulación o formación del coagulo deteniendo así la pérdida de sangre (hemostasia), esta fase es muy importante pues aquí se liberan varios factores para atraer las células que fagocitan: residuos, bacterias, tejido dañado y liberen factores que inicien la fase proliferativa de cicatrización de la herida.

a. Cascada de coagulación

Cuando la piel es herido, la sangre entra en contacto con el colágeno esto hace que las plaquetas que tiene la sangre comiencen a secretar factores inflamatorios. (9) Las plaquetas también forman una sola masa ya que estas tienden a producir glicoproteínas en sus membranas permitiéndoles así unirse unas con otras. (ARIAS, J. 1999)

La fibronectina y la fibrina se enlazan formando una especie de red o tapón, esta red atrapa las proteínas y partículas parando la pérdida de sangre que se da en la herida. (CALNE, Z. 2008)

Este tapón o red se convierte en el soporte principal estructural de la herida hasta tanto se deposite el colágeno. Este tapón es utilizado por las células migratorias como una matriz pues les permite desplazarse con facilidad, las plaquetas continúan adhiriéndose mientras al mismo tiempo secretan vario factores. Posteriormente el coagulo es desechado eventualmente y remplazado por tejido granular y luego este es remplazado por colágeno. (ARIAS, J. 1999)

b. Plaquetas

Las plaquetas son megacariocitos o pedazos de células que intervienen en el proceso de coagulación, estas aumentan su número en la sangre al producirse una y liberan varias sustancias en la sangre como son: la serotonina, bradiquinina, prostaglandinas, prostaciclina, tromboxano, e histamina; estas incrementan la velocidad de migración de las células al área afectada y ayudan a los vasos sanguíneos en su dilatación e incremento de porosidad. Además segregan también proteínas ECM, citoquinas, y factores de crecimiento. Estos factores de crecimiento impulsan a las células para que aumenten su velocidad de división. (CALNE, Z. 2008)

c. Vasoconstricción y vasodilatación

Una vez que un vaso sanguíneo resulte dañado las membranas de las células liberan factores inflamatorios entre los cuales están tromboxanos y prostaglandinas, estos factores permiten que el vaso se contraiga disminuyendo la pérdida de sangre y colaborando en la su aglutinación en el área las células inflamatorias y los factores inflamatorios. (9) Esta contracción de los vasos sanguíneos dura de 5-10 minutos aproximadamente y es seguido por un periodo de vasodilatación, en este periodo los vasos se estiran, este fenómeno dura aproximadamente luego de producirse la herida unos 20 minutos el principal factor que desencadena este fenómeno es la histamina esta también provoca que los vasos sanguíneos se tornen porosos lo que induce a que la piel tome el aspecto edematoso por las proteínas que transporta la sangre al espacio extravascular esto hace que la carga de la zona se torne osmolar y atraiga agua a la zona. (CALNE, Z. 2008)

Esta porosidad en los vasos sanguíneos hace que ingresen las células inflamatorias como son los leucocitos al área afectada. (CAÑIGUERAL, M. 2010)

d. Leucocitos polimorfonucleares

Después de una hora luego de producirse una herida llegan un gran número de leucocitos polimorfonucleares siendo las más abundantes al cabo de 3 días. La fibronectina, los factores de crecimiento y los neuropéptidos y quininas son atraídos hacia la herida. Los granulocitos limpian la herida mediante pues fagocitan las bacterias e impurezas además producen proteasas que diseminan el tejido dañado. Después de cumplir su tarea estos leucocitos sufren apoptosis y son devorados por los macrófagos. (LOPATEGUI, E. 2012)

Las células T secretan citoquinas para estimular a la subdivisión de las células T e incrementar la actividad de los macrófagos, también aumentar la inflamación, mejorar la vasodilatación y permeabilidad de los vasos. (LOPATEGUI, E. 2012)

e. Los Macrófagos

Estas células tienen la función fagocitaria, pues son indispensables para la cicatrización. Luego de 2 días estas células son abundantes en la zona de cicatrización y los monocitos del torrente sanguíneo son atraídos a la zona de la herida por los factores de crecimiento liberados por las plaquetas y otras células. (CHOPRACK, D. 2012)

Una vez los monocitos en la herida al cabo de un día alcanzan su máxima proporción, luego estos maduran y se transforman en macrófagos estos son aquellas que limpian la zona eliminando bacterias y residuos. (CHOPRACK, D. 2012)

Además de fagocitar o limpiar la herida segregan sustancias o factores como las citoquinas o los factores de crecimiento que atraen a las células que participan en la etapa de proliferación de cicatrización de la herida. Además los macrófagos producen factores que incrementan la angiogénesis por el bajo contenido de oxígeno en la zona y a producir la reepitelización del área afectada, crear un tejido granular y formar una nueva matriz extracelular. Estas células son elementos vitales para producir la cicatrización y pase a la siguiente fase. (CALNE, Z. 2008) (GUTIERREZ, L. 2012)

La inflamación es una parte indispensable para la cicatrización, pues cumple con ciertos roles que combaten la infección de la zona y estimulan que pasen a la siguiente fase. Pero si la inflamación dura mucho tiempo puede producir daños en el tejido, por lo que al tratar una herida se trata de reducir el grado la inflamación. (GUTIERREZ, L. 2012)

Al reducir la inflamación disminuye la secreción de factores de inflamación, los q todavía están en la zona son eliminados y disminuye la presencia de neutrófilos y macrófagos. Todos estos cambios son significativos que la fase de inflamación está finalizando y por ende la siguiente fase empieza. (GUTIERREZ, L. 2012)

1.3.3.2 Fase proliferativa

Lugo de 2 ó 3 días de haberse producido la herida, los fibroblastos empiezan a influenciar en la cicatriz, determinando el inicio de la fase proliferativo, aun antes que la fase la fase inflamatoria haya concluido. Todos los pasos que ocurren en esta fase no son sucesivos pues ocurren simultáneamente. (CHOPRACK, D. 2012)

a) Angiogénesis

La neurovascularización tiene lugar simultáneamente con la proliferación de fibroblastos, cuando las células endoteliales migran hacia la zona de la herida. La angiogénesis es vital para que sucedan las siguientes fases como la migración epidérmica y de fibroblastos, contribuyendo el oxígeno que necesitan para desarrollar sus funciones. Las células madre llamadas endoteliales que llegan de los vasos sanguíneos sanos generan pseudópodos que se desplazan a través del ECM hacia la herida. Las células endoteliales requieren de colagenasa y activadores plasminogénicos para disgregar el coágulo y parte del ECM. Estas células son atraídas hacia la herida por la fibrinectina. (CHOPRACK, D. 2012) (GUTIERREZ, L. 2012)

La apoxia y presencia de ácido láctico en la zona afectada hace que se dé el crecimiento endotelial y la proliferación así como también las células endoteliales son

transportadas por la fibronectina además de otros factores angiogénicos que son producidos por las plaquetas y macrófagos. Si los macrófagos u otras células productoras de factores dejan de ser hipóxico y de estar llenos de ácido láctico, dejan de generar factores angiogénicos. Por ende la migración y proliferación de células endoteliales. Y los vasos afectados en este proceso mueren por apoptosis. (OROZCO, M. 2012)

b) Fibroplasia y formación de tejido granular

Con la angiogénesis empieza a acumularse los fibroblastos en la herida estos comienzan a aparecer 2 ó 5 días después de producidas las heridas, cuando la fase la fase inflamatoria finaliza su número llega a ser el máximo. Luego ellas son las primordiales células responsables de generar la matriz de colágeno en la cicatriz. (CHOPRACK, D. 2012)

Los fibroblastos de los tejidos normales se transforman hacia la herida usan la fibrina que se forma en la fase inflamatoria para transportarse, pegándose a la fibronectina.^[25] ellos colocan sustancia basal en la base de la herida y posteriormente colágeno, al cual se pueden pegarse para transportarse. (CALNE, Z. 2009)

El tejido granular es necesario para reponer una herida que atraviesa la membrana basal. Este comienza a aparecer en la cicatriz generalmente por la fase inflamatoria, en este tejido crece hasta que cubra la base de la cicatriz y se generan nuevos vasos sanguíneos, fibroblastos, células inflamatorias y endoteliales, miofibroblastos y un nuevo ECM provisorio. (CALNE, Z. 2009)

Las glicoproteínas, glicosaminoglicanos (GAGs), proteoglicanos, fibronectina y elastina, para luego ser utilizados para transportarse a través de la herida. Los fibroblastos al igual que la hipoxia secretan también factores de crecimiento, juntamente con la fibronectina y los factores de crecimiento (PDGF, TGF- β) y estimulan a la multiplicación y al transporte hacia la herida y generar moléculas ECM. Los factores d crecimiento producidos durante una baja concentración de oxígeno provocara una cicatriz muy fibrosa. (CALNE, Z. 2009)

c) Disposición de colágeno

Los fibroblastos tienen como función principal producir colágeno. Estos comienzan a excretar una cantidad de colágeno unos 2 o 3 días después de que se produzca la herida. La producción de colágeno se mantiene durante unas semanas equiparando lo destruido. La cantidad de colágeno que se disponga es muy importante pues aumenta la resistencia de la herida pues si no hubiera este componente lo único que mantiene cerrada la herida es el coagulo haciendo que la herida sea frágil. (GUTIERREZ, L. 2012)

Mientras se produce colágeno por los fibroblastos, este es degradado por la colagenasa y otros factores. Esta homeostasis es un indicador de que la fase de maduración comienza. Mientras termina la granulación y la cantidad de fibroblastos en la herida después de haber cumplida su trabajo. Al finalizar estas células sufren apoptosis, con esto el medio aún no se compone principalmente de colágeno. (GUILLAMENT, A. 1999)

d) Reepiteliarizacion

Al producirse el tejido granular en una herida abierta permite que se desarrolle la fase de reepiteliarizacion, durante la cual las células epiteliales migran a través del nuevo tejido para desarrollar una pared entre la herida y el medio ambiente. Las glándulas sebáceas, sudoríparas u los folículos pilosos son las principales células responsables de la fase de reepiteliarizacion de la herida. Los queratinocitos son los primeros en transportarse para luego multiplicarse. Esta migración puede producirse unas horas después de producirse la herida, pero las células epiteliales necesitan de un tejido viable para poder transportarse, es por esto que el tiempo para la migración es variable. Las células de los bordes de la herida aumentan al tercer día de producida la herida. (REINALDO, I. 2011)

Los queratinocitos modifican su forma antes de empezar su migración, adoptando una forma alargada y plana. Las integrinas durante su migración en el pseudópodo se unen a la ECM, y los filamentos arrastran a la célula. Esta interacción con las anginas con la

molécula promueve a la producción de filamentos de actina, lamelipodia y filopodia. (GUILLAMENT, A. 1999)

Es así que las células epiteliales se superponen entre sí para poder transportarse, tomando esta capa el nombre de lengua epitelial. Las células en llegar primero a la membrana basal forman la capa del mismo nombre. Al continuar esta migración otras células epiteliales se deslizan sobre ellas. De igual forma que los fibroblastos y los queratinocitos que migran utilizan la fibronectina entrelazada con fibrina. Mientras los queratinocitos migran a través del tejido granular por debajo de la costra, separándola de su base. Las células epiteliales fagocitan toda célula que no necesiten pues deben disolver toda costra que se forme y evitar que se reseque pues a mayor sequedad una costra más grande y dura. (LEYVA, F. 2012)

Los factores de crecimiento impulsados por las integrinas y los MMPs, hacen que las células proliferen en los bordes de la herida. Los queratinocitos siguen transportarse sobre la herida hasta que esta capa se encuentra en el centro, en este momento se detiene su migración. Al detenerse esta migración estos secretan proteínas que luego van a formar la capa basal. Estas células restablecen sus cambios morfológicos y también los desmosomas y hemidesmosomas para fijarse de nuevo a la membrana basal, estas células comienzan a dividirse y diferenciarse al igual que una piel normal. (GUILLAMENT, A. 1999)

e) Contracción

Aproximadamente 5 días después de realizarse la herida los fibroblastos ya están diferenciados en miofibroblastos, en este momento la herida ya empieza a contraerse si una herida es muy profunda esta tarda unos 10 días en contraerse. Si esta contracción dura mucho tiempo puede producir desfiguración e incluso pérdida de la motilidad del área afectada. Esta contracción puede ser aproximadamente unos 0,75 mm por día esto en función de cómo se encuentra el tejido. (GUILLAMENT, A. 1999)

La actina al contraerse los bordes de la herida son juntados. Y para fortalecer la herida cuando se contraen los miofibroblastos se deposita colágeno que es segregado por los

fibroblastos la etapa de contracción termina cuando se detiene la contracción de los miofibroblastos produciéndose apoptosis. La disminución de la concentración del ácido hialurónico y un incremento del sulfato de condritina es provocada por la ruptura de la matriz provisoria. Esto conduce a los fibroblastos a detener su migración y proliferación. Todos estos eventos marcan el inicio de la fase de maduración. (GUILLAMENT, A. 1999)

1.3.3.3 Fase de maduración y remodelación

Si se equiparan los niveles de producción y degradación de colágeno es cuando comienza la fase de reparación del tejido. Esta fase puede durar un año dependiendo del tipo de herida si se la pudo cerrar o si se la dejó expuesta. En esta fase se descompone el colágeno de tipo III, que abundaba durante la proliferación, y es remplazado por colágeno de tipo I pues este es más resistente. A medida que se reduce la actividad en la herida, en la cicatriz se disminuye su aspecto eritematoso pues los vasos sanguíneos dejan de ser necesarios y son eliminados por apoptosis. (LEYVA, F. 2012) (GUILLAMENT, A. 1999)

En una herida sus fases deben evolucionar en una forma predecible en el tiempo, si no se diera de esta manera esta cicatrización se agravaría produciéndose como por una úlcera venosa o una cicatriz patológica como por ejemplo una lesión queloide. (GUILLAMENT, A. 1999)

1.3.4 FACTORES QUE INFLUYEN EN LA CICATRIZACIÓN

La manera de como una cicatriz responde depende mucho de la forma en que el cuerpo responde al trauma inicial. (CALNE, Z. 2008)

Los factores más conocidos que pueden afectar la evolución de una herida tenemos:

- La edad del paciente
- La salud general
- La herencia

- La profundidad y localización de la herida
- El tamaño de la lesión
- El grosor y color de la piel
- El aporte sanguíneo del área
- Factores que influyen en una mala Cicatrización. (CALNE, Z. 2008)

Además podemos mencionar factores externos como el maltrato del tejido y por ende de las células que componen los bordes de las heridas pues al estar lesionadas mueren dando lugar a la necrosis y también a la infección. Una sutura apretada o tejidos que han sufrido quemaduras o radiación. (OROZCO, M. 2012)

Los factores internos que pueden afectar a los procesos de cicatrización son déficit de vitaminas A, C y Zinc, Uso de corticoesteroides tópicos, orales o parenterales, uso de antimetabolitos, hipoproteinemia y los factores genéticos. (SANTAMARIA, E. 2012)

1.4 FITOTERAPIA

El común uso de las plantas medicinales con un fin curativo se le conoce como fitoterapia, en la antigüedad lo único con lo que disponían los médicos eran las plantas medicinales, esto abrió un campo para realizar el estudio de dichas plantas y ver porque curaban las distintas patologías solo con plantas. (FERNANDEZ, J. 2007)

Comúnmente conocida como fitoterapia y es la ciencia que se encarga del estudio del uso de productos de origen vegetal para prevenir tratar o curar ciertas patologías, varios nombres de plantas que se utilizaban con fines de curar pasaron de la era de los egipcios, romanos pasaron a la era medieval, posteriormente se ve afectada positivamente con el desarrollo que existe en la actualidad. (HAYA, F. 2007)

1.5 PLANTAS MEDICINALES

Las plantas medicinales son todas aquellas que elaboran sustancias con efecto medicinal ya sea beneficioso o perjudicial. (HOOGESTEGER, C. 2013)

1.5.1 PRINCIPIO ACTIVO

Principio activo es una sustancia que porta las propiedades farmacológicas que presenta una muestra, esto nos permite decir que principio activo es aquel que nos permite prevenir, tratar o curar la patología o enfermedad. Como conclusión tenemos que principio activo genera un efecto que puede medirse en un ser vivo. La sustancia en cuestión puede tener origen animal o vegetal, pero también puede haber sido sintetizada de manera artificial por el hombre. La denominación de principio activo sirve para diferenciar a estas sustancias de otras que pueden formar parte de un medicamento pero que no provocan efectos medicinales, conocidas como excipientes. (JARA, A. 2006)(FERNANDEZ, A. 2007)

1.6 BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*)



FUENTE: <http://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:171029/FULLTEXT01.pdf>

FIGURA N°-5 INFLORESCENCIA DE *Capsella bursa-pastoris*

1.6.1 NOMBRE COMÚN

Los nombres comunes que se le dan a esta planta es dependiendo el país y el idioma que se domine, así tenemos:

Español: bolsa de pastor, pan y quesillo, zurrón de pastor ó yerba del pajarito

Inglés: su nombre popular es shepherd`s purse o capweed.

Portugués: bôlsa-de-pastor

Italiano: borsa de pastore

Frances: bourse à pasteur. (ALONSO J., 2004)

La bolsa del pastor es comúnmente conocido como “Pan y quesillo”, este nombre proviene de la forma de zurrón que tiene sus frutos. La podemos encontrar en nuestros campos con facilidad, además la podemos encontrar como hierva de los chingolos, calzoncitos, jaramango blanco, pan y quesillo, comida de pajaritos. (ALONSO J., 2004)

1.6.2 NOMBRE CIENTÍFICO

Científicamente la bolsa de pastor es conocida como *Capsella bursa-pastoris*. (TANJA, S. 2009)

1.6.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliophyta

Subclase: Dilleniidae

Orden: Brassicales

Familia: Brassicaceae

Género: Capsella

Especie: *Capsella bursa-pastoris* L., 1753. (GARCIA, F. 2010)

1.6.4 ETIMOLOGÍA

Capsella deriva del latín y significa cajita, esta planta lleva su nombre pues sus frutos silicuas con los zurrones usados por los pastores. (ALONSO J., 2004)

1.6.5 HÁBITAT

La bolsa de pastor es una planta arvense y ruderal, muy abundante, que crece o se desarrolla desde los 5 m sobre el nivel del mar hasta los 2300 m de altitud. Esta es una planta característica de las comunidades pertenecientes a la clase de *Ruderalli-Secalietae*, tiene una cobertura diversa, dominada por terofitos de carácter arvense, vario o esionitrofilo, propios de suelos nitrificados. (ALONSO J., 2004)

1.6.6 DESCRIPCIÓN BOTANICA

La bolsa de pastor es una planta anual, herbácea; perteneciente a la familia de las Brassicáceas (Crucíferas), que presenta tallos de 15-50 cm de longitud, ascendentes, con pelos simples de hasta 1mm y otros de hasta 0,3 mm de diámetro. Las hojas basales crecen en forma de rosetas son pinatífidas o enteras dentadas y de 4- 10 cm de longitud. Las hojas radicales de color verde grisáceo son más escasas y nacen en el tallo, estas son sésiles de forma sagitada o abrasadora al tallo y de menor tamaño que las basales, de hasta 10 cm de longitud. Las flores de color blanquecino, pequeñas dispuestas en racimos que aparecen todo el año y que luego se transforman en frutos que tienen la forma triangular, a manera de un corazón invertido, que en su interior están unas semillas pequeñas de color pardo rojizo. Raíz pivotante con numerosas raicillas secundarias. (ALONSO J., 2004)

1.6.7 PRINCIPALES COMPONENTES DE LA *Capsella bursa-pastoris*

La bolsa de pastor posee los siguientes metabolitos secundarios:

Los principales flavonoides que se pueden identificar son la quercetina, diosina, heterosidos de luteolina, rutina. (ALONSO J., 2004)

Vitaminas como son la colina en un 1%, ácido ascórbico, y la vitamina K. Carbohidratos: como el adonitol, arabinosa, sorbitol, inositol. (ALONSO J., 2004)

Además también se pueden identificar taninos, saponinas, alcaloides en específico la burseina, aminos como son la colina, acetilcolina, tiramina histamina, prolina. Y abundantes sales de potasio. (ALONSO J., 2004)

1.6.8 USOS DE LA PLANTA:

Comestible: las hojas tiernas, recogidas antes de la floración de la planta, tienen un sabor picante y pueden ser consumidas en ensaladas o cocidas. Los brotes florales antes de la floración se consumen como el brécol, crudos o hervidos. Poseen un sabor picante igual que todas las crucíferas, debido a su contenido en glucosinolatos, las raíces tienen sabor picante y exprimido o molidas, se usan como sustitutos del jengibre. Las semillas desprenden un olor que repele a los mosquitos. La planta es un alimento para las aves en temporadas desfavorables. Se planta en suelos salinos para rebajar el nivel de salinidad del suelo. (ALONSO J., 2004)

1.6.8.1 USOS MEDICINALES

Según la Universidad de León de Austria la *Capsella bursa-pastoris* se utiliza como hemostático y corrector de las alteraciones de la coagulación. (FERNANDEZ, C. y otros. 2009)

Virginia Cevallos menciona que la *Capsella bursa-pastoris* se utiliza en casos de Hemorragias genitales, reglas abundantes (metrorragias) e irregulares, en postparto, varices, hemorroides (en forma de baños y cataplasmas), cicatrización de heridas (Usaremos su infusión para lavarla y también en crema.), hemorragias, depurativa de la sangre. (HERNANDEZ, A. 2008)

SECOLUCION educación ambiental dice que la bolsa de pastor es utilizada para sangrados tanto internos como externos, para hemorragias nasales, pues posee propiedades hemostáticas y además es diurética. (MONTES, M. 1990)

Según Susana Oriani de la Facultad de Medicina Universidad de la Pampa Argentina la bolsa de pastor posee una actividad antimicrobiana potente pues en pruebas microbiológicas *Staphylococcus aureus* forma un halo alrededor del extracto. (MONTES, M. 1990)

Julia Chuy en su proyecto de tesis en la Universidad de San Carlos de Guatemala a la *Capsella bursa-pastoris* se le atribuye propiedad antihipertensiva, astringente,

diurética, emenagoga, hemostática, vasoconstrictora y antiséptica. Y su aplicación tópica se le atribuye propiedad desecante, hemostática y vulneraria, utilizada para tratar hemorragia, heridas y quemaduras. (FERNANDEZ, C. y otros. 2009)

Gerardo García dice que es una planta con propiedades astringentes, diuréticas, emenagogo, vulneraria y hemostáticas se realiza para frenar hemorragias internas y externas, úlceras, sangrados nasales, para tratar las hemorroides, para la metrorragia, regular las hemorragias menstruales y para el parto debido a su efecto toxico. (SHULL, A. 2010)

1.6.9 EFÉCTOS TOXICOS

La planta por infusión es bien tolerada a pesar de que se señala probables efectos hipotensores en los pacientes que las consuman, en trabajos experimentales en ratas se ha identificado una baja toxicidad. La DL50 intraperitonealmente ha sido valorada en 1,5 g/k y por vía sub cutánea 31,5 g/k. (HERNANDEZ, A. 2008)

Los signos de sobredosis se pueden evidenciar presencia de taquicardia, midriasis, sopor disnea, paro muscular y en los casos más graves paros respiratorios. Según los últimos estudios ha sido reportada como bociógena en animales de experimentación. (HERNANDEZ, A. 2008)

1.6.10 CONTRAINDICACIONES

No se recomienda su uso en el caso de lactancia ni embarazo debido a la actividad tónica que presenta en los úteros aislados en animales. No se recomienda su uso en pacientes que presenten hipotiroidismo, hipertensión arterial, trastornos cardíacos severos. (MONTES, M. 1990)

Con medicamentos no administrar de forma concomitante con tratamientos pro coagulantes diuréticos o sedantes debido a probable repotenciación de los efectos. (HERNANDEZ, A. 2008)

1.6.11 PREPARACIONES FARMACOLÓGICAS

Tintura: 30g de planta en 100 ml de alcohol 70°. Se recomienda el su uso de 30- 40 gotas distribuidos 3 veces al día. (ALONSO J., 2004)

Infusión: 2- 4 gramos de planta infundir por 15 min, es recomendable administrarse una tasa pequeña 2 ó 3 veces al día. (ALONSO J., 2004)

Extracto fluido: 0,1 a 0,15 g se administra 3 veces al día. (Alonso J., 2004)

Uso externo 3-5 g de planta en 150 ml de agua, realizar una infusión, aplicar en forma de compresa en el área aplicada. (ALONSO J., 2004)

1.7 EXTRACTO SOLIDO LÍQUIDO

Un extracto sólido-líquido es el cual se pone en contacto un sólido en el caso que vamos a realizar es la planta o vegetal con un líquido o el disolvente en el cual se quiere extraer, en el cual son solubles los compuestos que poseen el sólido o vegetal, como resultado tenemos un sólido restante y una disolución o lo que comúnmente se conoce como extracto que está formado por el diluyente más los compuestos del vegetal diluidos. Los extractos son muy utilizados para las plantas que poseen compuestos medicinales o con actividad farmacológica, para así poder determinar en qué cantidad se encuentran o simplemente identificar la presencia de sustancias. (CAMPOS, G. 2012)

1.7.1 EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO, TINTURA MADRE

Para realizar este tipo de extracto el vegetal debe estar con un tamaño de partícula no necesariamente muy pequeño, esta se la mezcla con una solución de alcohol más agua es decir alcohol diluido y se conserva en un recipiente de ámbar completamente hermético en un lugar fresco y oscuro este líquido o diluyente debe estar en cantidad suficiente es decir cubriendo el vegetal, hay que realizar movimientos al frasco periódicamente, se deja en maceración durante un tiempo apropiado que es de 1 mes, posteriormente se filtra, se envasa y se lo guarda apropiadamente. (ABDO, G. RIQUELME, A. 2010)

1.8 MACERACIÓN

La maceración es un proceso de extracción sólido líquido donde la materia prima o vegetal posee una serie de compuestos o metabolitos secundarios solubles en el solvente de extracción que son aquellos que se pueden extraer. Este proceso tiene como resultado 2 productos y pueden ser empleados de distinta manera según sus necesidades, bien sea el residuo de la planta o ya sea el extracto. La calidad de los metabolitos extraídos depende de la calidad de materia prima empleada así como del solvente de extracción. Existen 2 tipos de maceración según la temperatura y son: (HERNANDEZ, A. 2008)

1.8.1 MACERACIÓN EN FRIO

Este tipo de maceración se basa en sumergir la materia prima en la cantidad de solvente de extracción en un recipiente, esto se lleva a cabo durante un periodo de tiempo largo dependiendo del producto que se vaya a utilizar. Las ventajas de esta maceración son en el momento de la utilización de equipos simples que no consumen grandes cantidades de energía y en la capacidad que tienen para extraer la materia la mayor cantidad de compuestos de la materia prima que se macera se diría que prácticamente en su totalidad sin ser alterados por agentes físicos como temperatura. El único efecto adverso que posee este método es el tiempo de maceración ya que se necesita de varios días. (HERNANDEZ, A. 2008)

1.8.2 MACERACIÓN CON CALOR

El proceso consiste en el contacto que hay entre las fases, la materia prima a macerar y el solvente de extracción con la diferencia en la temperatura a la que se le somete para la extracción, es decir variar las condiciones de maceración. Al realizar este método el tiempo que demora en macerar va a ser mucho menor que en la maceración en frío ya que al someterle al calor se acelera este proceso. (HERNANDEZ, A. 2008)

Entre las desventajas de este método tenemos que no logra extraer totalmente los metabolitos pues el calor destruye algunos compuestos termosensibles, además se requiere de equipos más modernos que llegan a consumir grandes cantidades de energía. (MARTINEZ, I. CASTILLO, E. 2007)

1.8.3 VARIABLES DE EXTRACCIÓN

La velocidad y eficiencia de la extracción se ve alterada por distintos factores, principalmente por aquellos que tienen relación directa con la solubilidad del componente que se quiere extraer. Entre los factores tenemos: (MONTES, M. 1990)

- Temperatura
- Concentración del solvente
- Tamaño de la partícula
- Porosidad
- Fuerza externa
- Agitación. (MONTES, M. 1990)

Es por eso que al momento de aumentar la temperatura aumenta la velocidad de extracción pero se ve limitada por el punto de ebullición del solvente, el punto de degradación del metabolito de interés, la solubilidad de compuestos no deseados. (MONTES, M. 1990)

1.9 FILTRACIÓN

La filtración es el proceso de separación de un sólido que se encuentra suspendido en un líquido a través de un medio poroso pues este retiene el sólido y atraviesa el líquido. Este método de separación es muy utilizado pues es usado desde la vida diaria como a nivel industrial. En la actualidad se disponen de múltiples maquinarias para realizar este proceso. Pues hay dispositivos que poseen filtros sumamente pequeños aplicables para retener partículas ínfimas. (PUELLES, M. 2010)

1.9.1 TIPOS DE FILTRACIÓN

Según muchas fuentes de consulta la manera de clasificación de la filtración es diverso, teniendo que se la puede clasificar tomando en cuenta los siguientes criterios. (MONTES, M. 1990)

- El mecanismo de filtración.
- La naturaleza de la mezcla.
- El ciclo operacional.
- La fuerza impulsora. (PUELLES, M. 2010)

1.10 METABOLITOS SECUNDARIOS RELACIONADOS CON EL EFECTO CICATRIZANTE

Los metabolitos secundarios primordiales para la cicatrizacion so los taninos y flavonoides.

1.10.1 TANINOS

Son compuestos polifenólicos muy astringentes y de gusto amargo que producen las plantas. Hay dos tipos de taninos que son los hidrosolubles y los condensados. La principal funcion que precentan los taninos es la de protectora de las plantas contra las distintas agreciones que sufren como son golpes o lecciones, pues estos son toxicos para los microorganismos o no son digeribles para los hervivoros. Su sabor es muy aspero y producen sequedad de las mucosas de la boca al comerlos. Esta capacidad para secar las mucosas se conoce como astringencia y se dice que son astringentes. (QUIROZ, R. 2012)

1.10.1.1 Usos medicinales

Ademas de ser un exelente cicatrizante los taninos precentan muchas otras propiedades como son :

Antioxidante.- pue eliminan los radicales libres del organismo, evitando la aparicion de enfermedades degenerativas como el cancer. (ALVAREZ, J. 2007)

Deteccion de diarreas.- por su capacidad astringente en el organismo provoca que las deposiciones sean mas secas. (ALVAREZ, J. 2007)

Antídotos contra venenos.- pues los taninos en el organismo al ser astringente cierra poros e impide que se absorban las sustancias venenosas o los alcaloides evitando que lleguen a la sangre u por ende evitando su metabolismo. (QUIROZ, R. 2012)

Colesterol.- al inhibirse la absorcion de los nutrientes evita tambien que se absorban las grasas y sean expulsadas por las heces. (REINALDO, I. 2011)

Curacion de heridas y cuidado de la piel.- los taninos tienen una funcion cicatrizante al acelerar la curacion de las heridas y hemostatica pues detienen el sangrado pues se unen los taninos con las proteinas y se quedan en un ambiente seco es decir un medio con bajo poder de agua impidiendo asi la proliferacion de bacterias, ayudando asi a la coagulacion y asi contribuyendo a la curacion de la herida. Entre las varios usos tenemos: (ALVAREZ, J. 2007)

- En el tratamiento de hemorroides
- En las ulceras de la boca
- Tratamientos de la garganta irritada
- Cuidado de la piel: tienen un aplio uso en la cosmetica entre los que tenemos la curacion de granos, espinillas o la eliminacion de la grasa en las pieles que precentan demaciada. (ALVAREZ, J. 2007)

1.10.2 FLAVONOIDES

Los flavonoides son un grupo muy amplio de compuestos polifenolicos su caracteristica principal es su nucleo benceno, carbono, pirano, estan ampliamente distribuidos en las plantas vasculares en forma natural o glicocidada, estos ayudan mucho a la planta como por ejemplo evitan la roliferacion de microorganismos, actuan en la ovipisicion, en los humanos tienen actividada antioxidante. (MARTÍNEZ, S. 2002)

1.10.2.1 Aplicaciones de los flavonoides en la salud

Los flavonoides consumidos por el hombre le protegen del daño de los oxidantes, como los rayos UV cuya cantidad aumenta en verano, la polución ambiental, algunas sustancias químicas presentes en los alimentos (colorantes, conservantes, etc). Al limitar la acción de los radicales libres (que son oxidantes), los flavonoides reducen el riesgo de cáncer, mejoran los síntomas alérgicos y de artritis, aumentan la actividad de la vitamina C, bloquean la progresión de las cataratas y la degeneración macular, evitan las tufaradas de calor en la menopausia (bochornos) y combaten otros síntomas. (QUIROZ, R. 2012)

En general el sabor es amargo, llegando incluso a provocar sensaciones de astringencia si la concentración de taninos condensados es muy alta. El sabor puede variar dependiendo de las sustituciones presentadas en el esqueleto llegando incluso a usarse como edulcorantes cientos de veces más dulces que la glucosa. (QUIROZ, R. 2012)

1.10.2.2 Efectos de los flavonoides sobre el ser humano.

Sus efectos en los humanos pueden clasificarse en:

- Propiedades anticancerosas: muchos han demostrado ser tremendamente eficaces en el tratamiento del cáncer. Se sabe que muchos inhiben el crecimiento de las células cancerosas. Se ha probado contra el cáncer de hígado. (MARTÍNEZ, S. 2002)
- Propiedades cardiotónicas: tienen un efecto tónico sobre el corazón, potenciando el músculo cardíaco y mejorando la circulación. Atribuidas fundamentalmente al flavonoide quercetina aunque aparece en menor intensidad en otros como la genisteína y la luteolina. Los flavonoides disminuyen el riesgo de enfermedades cardíacas. (MARTINEZ, A. 2005)
- Fragilidad capilar: mejoran la resistencia de los capilares y favorecen el que éstos no se rompan, por lo que resultan adecuados para prevenir el sangrado. Los flavonoides con mejores resultados en este campo son la hisperidina, la rutina y la quercetina. (MARTÍNEZ, S. 2002)

- Propiedades antitrombóticas: la capacidad de estos componentes para impedir la formación de trombos en los vasos sanguíneos posibilita una mejor circulación y una prevención de muchas enfermedades cardiovasculares. (QUIROZ, R. 2012)
- Disminución del colesterol: poseen la capacidad de disminuir la concentración de colesterol y de triglicéridos.
- Protección del hígado: algunos flavonoides han demostrado disminuir la probabilidad de enfermedades en el hígado. Fue probado en laboratorio que la silimarina protege y regenera el hígado durante la hepatitis. Junto con la apigenina y la quercetina, son muy útiles para eliminar ciertas dolencias digestivas relacionadas con el hígado, como la sensación de plenitud o los vómitos. (MARTINEZ, A. 2005)
- Protección del estómago: ciertos flavonoides, como la quercetina, la rutina y el kaempferol, tienen propiedades antiulcéricas al proteger la mucosa gástrica. (QUIROZ, R. 2012)
- Antiinflamatorios y analgésicos: la hesperidina por sus propiedades antiinflamatorias y analgésicas, se ha utilizado para el tratamiento de ciertas enfermedades como la artritis. Los taninos tienen propiedades astringentes, vasoconstrictoras y antiinflamatorias, pudiéndose utilizar en el tratamiento de las hemorroides. (MARTÍNEZ, S. 2002)
- Antimicrobianos: isoflavonoides, furanocumarinas y estilbenos han demostrado tener propiedades antibacterianas, antivirales y antifúngicas. (QUIROZ, R. 2012)
- Propiedades antioxidantes: En las plantas los flavonoides actúan como antioxidantes, especialmente las catequinas del té verde. Durante años se estudió su efecto en el hombre, y recientemente se ha concluido que tienen un efecto mínimo o nulo en el organismo humano como antioxidantes. (MARTÍNEZ, S. 2002)

Por esto los doctores prescriben una dieta con alto cantidad de flavonoides, por lo que es beneficioso consumir vegetales pues son ricos en este metabolito secundario. (QUIROZ, R. 2012)

1.11 ETEROL

El eterol esta compuesto de:

- Fenol 1 g
- Violeta de genciana 0.4 g
- Excipiente alcohólico c.s.p. 100 ml. (LIFE Ecuador. 2013)

Está indicado para el facilitar le cicatrización en recién nacidos escoriación de la piel ulceras y heridas, al igual que se aplica para tratar abscesos, fistulas y mataduras al igual que en las ulceraciones de la boca. El eterol al ser un antiséptico se debe aplicar sobre el área afectada previo su limpiado hasta que se cure totalmente. (LIFE Ecuador. 2013)

Este al ser comburente no se lo mantiene a altas temperaturas pues causar quemaduras por el alcohol que tiene, además debe dejárselo fuera del alcance de los niños. (RFE. 2010)

1.12 LAMODERM

El LAMODERM es una asociación corticoide-antibiótica utilizada en el tratamiento de uso local para afecciones de la piel de etiología inflamatoria y/o bacteriana. (REAL FARMACOEPA ESPAÑOLA. 2003)

Está compuesta de acetato de prednisolona y sulfato de neomicina, la primera es un dermocorticoide que en la forma micronizada como se presenta en LAMODERM, esta tiene un efecto antiinflamatorio y antialérgico sobre la piel. Mientras que el sulfato de neomicina es un antibiótico de amplio espectro que no es inactivado por los exudados y no produce síntomas locales ni generales de hipersensibilidad. (RUIZ, B. 2011)

Se la puede usar en dermatosis y dermatitis alérgicas pueden o no estar infectadas, eczema en general acné irritado, picadura de insectos, lastimaduras de cicatrización lenta y que no responda la tratamiento que usualmente se aplica, dermatitis seborreica y en general cualquier condición anormal de la piel debida a un factor alérgico,

inflamatorio o infeccioso. Se presenta en tubos de 5 y 15 g. (REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA. 2003)

1.13 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

1.13.1 EL RATÓN COMO ANIMAL DE LABORATORIO

Desde la antigüedad el ratón ha llamado la atención de los investigadores para cuidarlos, es así que existen escritos desde hace más de 3 mil años en los que dicen que en la antigua China decían que existían ratones manchados, para luego extenderse esta curiosidad por Japón y toda Europa. La primera vez que se utilizó un ratón para experimentación fue en 1964 por Robert Hooke fueron usados para estudiar las propiedades del aire, luego por Cuenot y Wiliam en 1900 que estudiaron sobre la herencia del color del pelaje, y sirvieron para confirmar que las leyes de Mendel podían ser aplicadas también a los mamíferos. (CNICT. 2009)

Varios investigadores consideran a los ratones como un modelo animal casi perfecto pues además de ser pequeños tienen un corto tiempo que pasa de una generación a otra y su gran facilidad para mantenerlos conjuntamente con su gran rendimiento reproductivo, lo determinan como un modelo único para la genética experimental de todas las características que poseen 3 son principales y son: (PARDO, A. 2005)

- Debido a que soportan bien la consanguinidad, es posible obtener líneas de individuos genéticamente idénticos, virtualmente homocigotas para todos sus loci. (PARDO, A. 2005)
- El ratón es inusual en el sentido de que es posible criar híbridos viables y fértiles acoplando las líneas de laboratorio con varias especies derivadas de animales salvajes. (PARDO, A. 2005)
- Se ha conseguido el desarrollo de técnicas de mutagénesis dirigida (del inglés *gene targeting*) que producen alteraciones heredables del genoma casi “a pedido”, cosa que, por el momento, no es posible en ninguna otra especie de laboratorio. (PARDO, A. 2005)

CAPÍTULO II

2 PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, Laboratorio de Fitoquímica, Farmacología, Análisis instrumental y en el Bioterio de la Facultad de Ciencias.

El análisis de las pieles en proceso de cicatrización se realizó en el laboratorio histopatológico de SOLCA.

2.2 MATERIALES EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1 PLANTA EN ESTUDIO

La materia prima que se utilizó fueron los tallos y hojas de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*).

Esta planta fue recolectada en el mes de Febrero del 2014 en la provincia de Chimborazo, Cantón Riobamba, Ciudad Riobamba, Barrio la Inmaculada.

2.2.2 REACTIVO BIOLÓGICO

El estudio in vivo para evaluar la actividad cicatrizante se realizó en ratones (*Mus musculus*) de peso promedio entre 25-30 g de sexo machos, edad de ente 2 a 2,5 meses

Condiciones macro ambientales:

Humedad relativa: 55% +/-10

Temperatura: 22°C +/- 2

Periodo: 12 horas de luz – 12 horas de oscuridad

Cama con viruta: cambio cada 48 horas

Alimento: Balanceado para roedor en forma de pellets (15g) y Agua ad libitum

2.2.3 EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS PARA EL ANALISIS DE LA MATERIA PRIMA

2.2.3.1 Equipos

- Balanza analítica (Boeco)
- Rotavapor (HEIDOLPH TYPE HEIZBAD HEI-V)
- Estufa (Memmert)
- Mufla (Optic Ivymen System)
- pH-metro
- Refractómetro
- Espectrofotómetro

2.2.3.2 Materiales

- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Pinzas para tubo
- Vasos de precipitación de 100, 250, 500 ml
- Trípode
- Embudo simple
- Crisol
- Papel filtro
- Reverbero
- Varilla de agitación
- Pipetas volumétricas de 5 ml
- Cápsulas de porcelanas
- Probetas de 10, 100, 500 ml
- Balones esmerilados de 500 ml
- Papel aluminio
- Picnometro
- Balones aforados de 10, 50 y 100 ml
- Pera de succión
- Espátula
- Pipetas graduadas de 1 y 10 ml
- Pipetas graduables con un rango desde 10 hasta 1000 μ l
- Envases estériles de vidrio
- Placas de vidrio
- Aspersor para revelar las placas cromatográficas
- Jeringuilla de 1 ml
- Cinta métrica
- Marcador
- Bisturí
- Frascos de vidrio estériles

2.2.3.3 Reactivos

- LAMODERM
- Crema depilatoria
- Lidocaína con epinefrina
- Eterol
- Alcohol al 40%
- Éter dietílico
- Alcohol al 96 %
- Acetato de etilo
- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico
- Anhídrido acético
- Cloroformo
- Agua Destilada
- Nitrito de plata
- Reactivos de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Baljet

- Reactivo de Sudan III
- Reactivo de Fehling A
- Reactivo de Fehling B
- Hidróxido de sodio
- Magnesio metálico
- Solución de carbonato de calcio
- Cloruro férrico
- Carbonato de sodio
- Alcohol amílico
- Silica gel 60 F254 (Merck)
- Formol al 10%

2.3 MÉTODOS Y TÉCNICAS:

2.3.1 RECOLECCION DE LA MATERIA PRIMA (VEGETAL)

La materia prima tallos y hojas de bolsa de pastor fueron recolectadas en el barrio la Inmaculada de la Ciudad de Riobamba, Provincia de Chimborazo a una altura de 2635 m sobre el nivel de mar, con una temperatura de 16°C en época invernal para su posterior análisis.

Luego de la recolección al se procedió a desechar las partes dañadas de la planta, posterior mente se lavó con abundante agua y se desinfecto para ponerla a secarla a temperatura ambiente fuera del alcance de los rayos solares pues esta puede dañar algún metabolito secundario, una vez secar se las troceo y se guardó en un frasco de vidrio para que no le alcance la humedad y fuera de los rayos UV del sol

2.3.2 OBTENCIÓN DE EXTRACTOS PARA DETERMINAR LA PRESENCIA DE METABOLITOS SECUNDARIOS

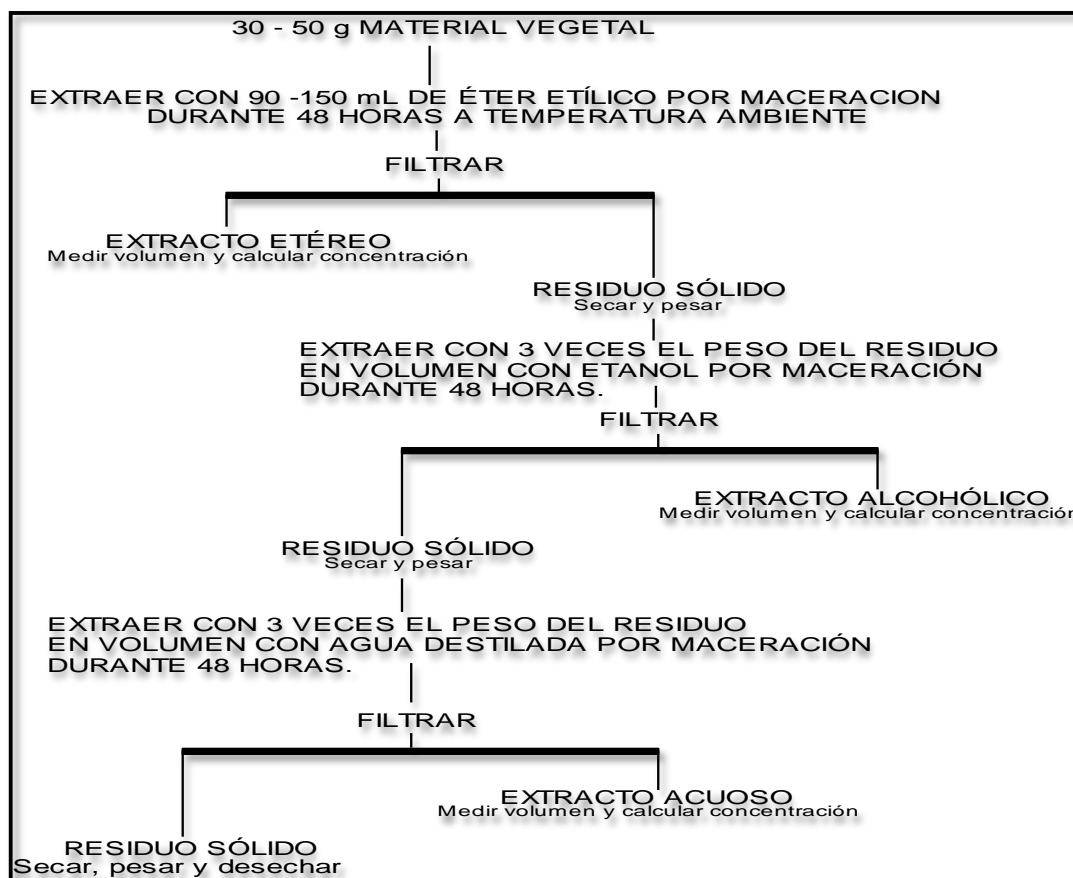
Para realizar el extracto etéreo se procedió a pesar 50 gr de la materia prima (tallos y hojas). Se colocó en un frasco ámbar luego se le adiciono 545 ml de éter pues se tubo q poner el solvente hasta q tape completamente el vegetal, se deja macerar durante 48 horas realizando movimientos del frasco cada cierto tiempo, pasado este tiempo se

filtra y se mide el volumen de extracto que se obtiene se deja secar la planta al ambiente y en la sorbona pues el éter es muy volátil a temperatura ambiente.

Para el extracto etanólico una vez seco el residuo vegetal del extracto anterior se pesó y se lo volvió a colocar en el frasco previamente lavado y seco y se le adiciono 650 ml de alcohol al 96% se dejó macerar durante 48 horas con movimientos parciales, pasado el tiempo determinado se filtró y midió el volumen del extracto, el residuo vegetal se deja secar en la estufa a una temperatura de 30°C pues se puede dañar los metabolitos sobrantes. Para el extracto acuosos el sobrante del vegetal una vez ya seco se pesó, se colocó en el frasco y se le adiciono 372 ml agua destilada se dejó macerar 48 horas una vez pasado el tiempo se filtró y se midió el volumen del extracto obtenido, al residuo vegetal se lo dejo secar y una vez seco se lo peso y desecho.

Para el extracto etéreo y alcohólico se los concentro con la ayuda del rota vapor dejándolo hasta la mitad de los extractos obtenidos inicialmente, posteriormente se lo dejo en refrigeración hasta su utilización en el tamizaje fitoquímico pues esto le ayuda a que las clorofilas precipiten u se peguen en las paredes del frasco que los contengan para en el momento de las pruebas el color verde característico de las clorofilas no influyan en las pruebas de coloración y precipitación del tamizaje.

Para el extracto acuoso una vez q se obtenga este extracto se lo puso bajo refrigeración y se lo utilizo lo más pronto posible pues este extracto tiende a dañarse con facilidad. Fig. 6



FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP309, 311 Y 312. MINSAP 199

FIGURA No. 6 ESQUEMA PARA LA REALIZACIÓN DE LOS EXTRACTOS

2.3.3 EXTRACCIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS DE LA BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) PARA EL ESTUDIO FARMACOLÓGICO (EXTRACTO HODROALCOHÓLICO)

Para la obtención del extracto hidroalcohólicos se procedió a pesar 20 g de Bolsa de pastor (tallos, hojas, flores y frutos) se lo coloco en un envase ámbar estéril y se le añadió 120 ml de alcohol al 40%, se adicionan 20 ml más para humidificar la planta pues esta es seca y no perder más de los 100 ml que debemos obtener se deja macerar por 7 días en un lugar obscuro, con agitación constante.

Posteriormente el extracto se filtró y se colocó en un envase ámbar de vidrio. Este extracto es el extracto madre que se utilizó.

Para la obtención de los extractos a concentraciones del 20, 40 y 80 % se realizó el siguiente procedimiento:

- Una vez obtenido el extracto madre se midió 2 ml del extracto y se lo aforo a 10 ml este es el extracto al 20 %

- Para el extracto al 40% se tomó 4 ml del extracto y se lo aforo a 10 ml con alcohol al 40%.
- Para el extracto al 80% se tomó 8 ml del extracto madre y se lo aforo a 10 ml con alcohol al 40%.
- Los extractos obtenidos fueron aplicados en los tratamientos por vía tópica.

2.3.4 CONTROL DE CALIDAD DEL VEGETAL

Para el control de calidad de la droga vegetal se lo realizó, en base a la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001) y Normas Ramales Drogas crudas. Extractos y tinturas. NRSP 309,311 y 312. MINSAP 1992.

El control de calidad de la droga se basó en las siguientes pruebas:

Contenido de humedad: método gravimétrico (pérdida por desecación en estufa).

Cenizas totales: método gravimétrico (determinación en seco)

Cenizas solubles en agua: método de calcinación.

Cenizas insolubles en ácido clorhídrico: método de calcinación.

2.3.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

A la materia prima se le realizó el tamizaje fitoquímico para lo cual se basó en las Normas Ramales Drogas crudas. Extractos y tinturas. NRSP 309,311 y 312. MINSAP 1992. El cual se realizó para determinar la presencia o ausencia de los siguientes metabolitos secundarios.

TABLA No. 1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE METABOLITOS SECUNDARIOS

METABOLITO	ENSAYO
Alcaloides	Dragendorff
	Mayer
	Wagner
Triterpenos y esteroides	Lieberman – Buchard
Flavonoides	Shinoda
Fenoles y taninos	Cloruro férrico
Saponinas	Espuma
Azúcar reductores	Felhing
Compuestos Grasos	Sudan III
Quinonas	Borntrager
Cumarinas	Baljet
Flavonoides	Antocianidinas
Catequinas	Catequinas
Resinas	Resinas
Mucilagos	Mucilagos
Principios amargos	Sabor

FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP309, 311 Y 312. MINSAP 199

Estas pruebas pueden variar dependiendo del extracto así tenemos:

Para el extracto etéreo se le realizaron los siguientes análisis Fitoquímico

- Ensayo de sudan
- Ensayo de Dragendorff
- Ensayo de Baljet
- Ensayo de Liberman-Buchard

Al extracto alcohólico se le realizan las siguientes pruebas Fitoquímicas:

- Ensayo de Baljet
- Ensayo de Catequinas
- Ensayo de resinas

- Ensayo de Fehling
- Ensayo de Liberman-Buchard
- Ensayo de Espuma
- Ensayo del Tricloruro férrico
- Ensayo de Ninhdrina
- Ensayo de Borntrager
- Ensayo de Shinoda
- Ensayo de Antocianidinas
- Ensayo de Dragendorff, Mayer, Wagner.

Al extracto acuoso se le realizaron las siguientes pruebas:

- Ensayo de Dragendorff, Mayer, Wagner.
- Ensayo de Shinoda
- Ensayo de Fehling
- Ensayo de Espuma
- Ensayo del Tricloruro férrico
- Ensayo de Mucilagos
- Ensayo de Principios Amargos

2.3.6 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

Se determinó los parámetros de calidad del extracto hidroalcohólico en base a las Normas Ramales Drogas Crudas. Extractos y Tinturas. NRSP 309,311 y 312. MINSAP 1992. Los parámetros de calidad son:

- Requisitos organolépticos.
- Densidad relativa
- Índice de refracción
- pH de extractos
- Sólidos totales: método gravimétrico (Estufa)

2.4 ANALISIS CROMATOGRÁFICO

La detección de flavonoides se llevó a cabo según la técnica de cromatografía de capa fina de Wagner H. 1996.

- Se utilizó el extracto hidroalcohólicos para la cromatografía
- Se aplicó 10 µL del concentrado etanólico en una placa cromatográfica de silica gel 60 F254 con ayuda de un capilar.
- Se dejó secar después de cada aplicación.
- Se colocó la placa en la cuba cromatografía, hasta que el solvente recorra $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
- Se retiró de la cuba y se dejó secar para luego observar en la lámpara UV 365nm
- Se revelo la placa y se dejó secar, calentando en el reverbero.
- Se observó la fluorescencia coloreada nuevamente a la luz UV (366nm), después de revelado con el agente revelador correspondiente.

Adsorbentes: Silica gel 60 F254

Sistema de solventes: cloroformo – acetona – ácido fórmico (75:16.5:8.5)

Revelador: Sulfato de Cerio

Cálculo:
$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida del solvente}}$$

2.5 CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTÓMETRICA PARA FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE RUTINA

La cuantificación de flavonoides en extracto hidroalcohólicos fue medido por espectrofotometría UV visible, según el método de Shin et al., con ligeras modificaciones para lo cual se siguió el siguiente procedimiento

- Se tomó una alícuota de 500 µL de extracto y se colocó en un tubo con 400 µL de agua bidestilada.

- Se añadió 38 µL de NaNO₂ al 5% p/v, se homogenizó, se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 5min.
- Luego se añadieron 38µL de AlCl₃ al 10% p/v, se agitó, se tapó y se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 6min.
- Para finalizar se agregó 250 µL de NaOH 1M y se completó a un volumen final de 1250µL con agua bidestilada.
- La absorbancia de la reacción fue medida inmediatamente a 510 nm en un espectrofotómetro UV – visible.
- La concentración de flavonoides fue establecida empleando una curva de calibración con un estándar de rutina a diferentes diluciones.

Los resultados se expresaron como mg de rutina por gramo de tejido vegetal.

2.6 CUANTIFICACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE COMPUESTOS FENÓLICOS (Micrométodo de Folin-Ciocalteu)

Los compuestos fenólicos son oxidados por el reactivo de Folin-Ciocalteu (Ver Anexo No. 3.). Este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfotúngstico (H₃PW₁₂O₄₀) y el ácido fosfomolibdico (H₃PMo₁₂O₄₀), que se reduce por oxidación de los fenoles, originando óxidos de tungsteno (W₈O₂₃) y de molibdeno (Mo₈O₂₃), de color azul. La coloración azul producida es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes, y posee una absorción máxima a 765 nm. (25)

En el laboratorio se realizó el ensayo en los extractos siguiendo el siguiente procedimiento:

- Se tomó una alícuota de 100µl de extracto hidroalcohólicos y se colocó en un balón aforado de 10 ml
- Se le añadió 5000 µl de agua bidestilada
- Luego se añadió 500 µl del reactivo de folin-ciocalteu, con mucho cuidado y en la obscuridad pues el reactivo tiende a oxidarse por ende a dañar el reactivo
- Inmediatamente añadir 2000 µl de carbonato de sodio al 20% p/v.

- Todo esto aforar el balón a 10 ml, tapar y dejar en la obscuridad por 30 minutos
- La absorbancia de la reacción fue medida a 765nm luego de transcurrido los 30 minutos
- La concentración de compuestos fenólicos fue establecida empleando una curva de calibración con un estándar de Ácido Gálico a diferentes diluciones.

Los resultados se expresaron como mg de Ácido gálico por gramo de tejido vegetal.

La concentración de compuestos fenólicos totales se determinó mediante la elaboración de la curva de calibración usando el ácido gálico como estándar de referencia, se prepararon soluciones en concentraciones de 20, 60, 100, 140 ppm y se aplicó el mismo esquema que en la preparación de las muestras.

Se determinó la ecuación de la recta para la curva de calibración en base al estándar de ácido gálico preparado a diferentes concentraciones medidas a 765 nm.

2.7 EVALUACION DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*)

Esta investigación se realizó en el Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

El método utilizado para evaluar la actividad cicatrizante se realizó en heridas inducidas en el material biológico.

El método se fundamenta en la realización de heridas longitudinales de 2 cm por 2 mm de profundidad en el dorso del ratón, en el cual el ratón queda herido y permita aplicar distintas sustancias cicatrizantes que se quieren investigar. Este modelo permite llegar a evaluar la actividad más no el mecanismo implicado en el proceso de cicatrización que presenta el vegetal a estudiar.

Para la evaluación de la actividad cicatrizante se utilizaron 7 grupos de 3 ratones seleccionados aleatoriamente. Para comenzar con la investigación primero se procedió

a quitar la lana del área donde se va a realizar las heridas un día antes de empezar la investigación, al siguiente día se empezó desinfectando el área luego aplicar la lidocaína con epinefrina subcutáneamente para así medir los 2 cm de la herida, luego cortamos los 2 cm por 2 mm de profundidad en el dorso del ratón, posteriormente se empezó con los tratamientos entre los cuales fueron el solvente de los extractos que era el alcohol al 40% y al tener ya una acción desinfectante se debía aplicar a un grupo para compararle con los extractos y que no interfiera con los extractos. También se utilizaron como grupo control positivo el Lamoderm y eterol 3 gotas por herida.

Las mediciones y observaciones se realizaron a los 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 días después de la inducción realización de las heridas, posteriormente se calculó las diferencias del tamaño de la herida con el pasar de los días y se realizó el promedio de las tres replicas.

Para evaluar la actividad cicatrizante de extractos de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*), se realizó mediante cinco etapas:

2.7.1 ETAPA 1: PERÍODO DE AMBIENTACIÓN

Se ambientó a todos los animales por grupos a las mismas condiciones ambientales y de alimentación de acuerdo al protocolo de investigación.

Temperatura: 22 0 C +/- 2

Humedad: 50 % +/-10

Período de fotoluminiscencia: 12 Horas de luz y 12 Horas de oscuridad

Periodo de tiempo: 7 días

Los animales de experimentación se ambientan al investigador y a la técnica que se va a realizar mediante manipulación y adaptación.

2.7.2 ETAPA 2: MODELO EXPERIMENTAL

En la siguiente tabla se indica los ensayos realizados a cada grupo con tres repeticiones para determinar la actividad cicatrizante de extractos de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*). Los animales de experimentación fueron seleccionados aleatoriamente para formar 8 grupos de tres ratones que servirán como Blanco, Control Negativo, Control Positivo y Experimento Neto.

Se mide cada día la cicatrización de los dorsos de los ratones mediante la observación. Se aplica el principio de las 3 R (reducción, refinamiento y reemplazo), para el estudio se utiliza 21 animales de experimentación.

TABLA No. 2 DISEÑO EXPERIMENTAL PARA EL ANÁLISIS DEL EFECTO CICATRIZANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) EN RATONES.

GRUPO		REPETICIONES		
GCN	R1	R2	R3	
GCL	R1	R2	R3	
GCE	R1	R2	R3	
GCA	R1	R2	R3	
GEC1	R1	R2	R3	
GEC2	R1	R2	R3	
GEC3	R1	R2	R3	

Dónde:

GCN: Grupo Control Negativo, solo se le realizaron las heridas sin tratamiento

GCL: Grupo Control Positivo, aplicación de la crema Lamoderm sobre la herida.

GCE: Grupo Control Positivo, aplicación del eterol sobre la herida.

GCA: Grupo Control Positivo, aplicación del alcohol sobre la herida.

GEC1: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólicos 20%

GEC2: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólicos 40%

GEC3: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólicos 80%

2.7.3 ETAPA 3: PRODUCCIÓN DE LAS HERIDAS EN LOS DORSOS DE LOS RATONES

A los animales de experimentación se los rasuro un día antes de realizarles las heridas pues su lana puede interferir con el tamaño de las heridas y además infectarlas. Al siguiente día se empezó desinfectando el área luego aplicar la lidocaína con epinefrina subcutáneamente para así medir los 2 cm de la herida, luego cortamos los 2 cm por 2 mm de profundidad en el dorso del ratón, posteriormente se empezó con los tratamientos entre los cuales fueron el solvente de los extractos que era el alcohol al 40% y al tener ya una acción desinfectante se debía aplicar a un grupo para compararle con los extractos y que no interfiera con los extractos. También se utilizaron como grupo control positivo el Lamoderm y eterol y alcohol al 40% y el extracto a distintas concentraciones aplicando 3 gotas por herida.

Las mediciones y observaciones se realizaron a los 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 días después de la inducción realización de las heridas, posteriormente se calculó las diferencias del tamaño de la herida con el pasar de los días y se realizó el promedio de las tres replicas.

Así vamos controlando que tratamiento tiene mayor éxito al cicatrizar una herida para evaluar si el vegetal tiene o no efecto cicatrizante y reduce el tamaño de la herida

2.7.4 ETAPA 4: TRATAMIENTO

Al grupo control negativo (GCN) se le produjeron las heridas, pero no tuvo ningún tratamiento cicatrizando por si sola

Al grupo control positivo (GCL) se le produjeron las heridas y se le aplico la crema Lamoderm. Se administró por vía tópica aplicando con la ayuda de un hisopo estéril

Al grupo control positivo (GCE) se le aplicó un cicatrizante de uso veterinario llamado eterol compuesto por Fenol 1g y violeta de genciana 0.4g, se administró por vía tópica aplicando con la ayuda de un gotero aplicando 3 gotas por herida.

Al grupo control positivo (GCA) se le aplicó el diluyente del extracto en mi caso fue el alcohol al 40% pues este ya tiene acción desinfectante y para q no interfiera en el resultado final de los extractos. Se administró por vía tópica aplicando con la ayuda de un gotero aplicando 3 gotas por herida.

La media del tamaño de las cicatrices q se realizaron en los dorsos de los ratones se realizó con la ayuda de una cinta métrica midiendo el largo o la longitud de la cicatriz. Las cicatrices fueron medidas cada 2 días durante 16 días hasta que se caiga la costra de cicatrización.

GEC1: Grupo Experimental del Extracto, se le aplico 3 gotas del extracto hidroalcohólicos de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) con una concentración del 20%

GEC2: Grupo Experimental del Extracto, se le aplico 3 gotas del extracto hidroalcohólicos de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) con una concentración del 40%

GEC3: Grupo Experimental Extracto, se le aplico 3 gotas del extracto hidroalcohólicos de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) con una concentración del 80%

La media del tamaño de las cicatrices q se realizaron en los dorsos de los ratones se realizó con la ayuda de una cinta métrica midiendo el largo o la longitud de la cicatriz. Las cicatrices fueron medidas cada 2 días durante 16 días hasta que se caiga la costra de cicatrización.

2.8 EVALUCION DE EFECTOS NEGATIVO DE LOS EXTRACTOS

Para evaluar si un extracto hidroalcohólicos posee alguna reacción desfavorable como la producción de alergia o irritación se avaluó mediante la observación pues al ir aplicando día a día se puede ver la producción de enrojecimiento, aparecimiento de ronchas, fiebre o algún síntoma de que hay presencia de un rash alérgico.

2.9 EXAMEN HISTOPATOLOGICO

A los animales de experimentación luego de haber terminado los tratamientos respectivos se los sometió a eutanasia con posterío cortes de las pieles en las áreas donde se encontraban las cicatrices, estas muestras fueron colocadas en frascos herméticos con formol diluido al 10 % para su posterior corte histológico

A las muestras tomadas se las corto en forma transversal de la cicatriz para su posterior fijación este procedimiento se realizó en SOLCA. Una vez las placas fijadas se analizaron microscópicamente cada placa por el Dr. Oswaldo Duque para su posterior reporte.

CAPÍTULO III

3 RESULTADOS

Los resultados que se han obtenido durante esta investigación serán expuestos en el presente capítulo así tenemos el control de calidad del vegetal (Bolsa de pastor) como de los extractos, además el resultado de la evaluación del efecto actividad cicatrizante

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA O MATERIA PRIMA

Al vegetal bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) una vez seca y triturada se procedió a realizarle el análisis Físico-Químico, para lo cual se tomó como referencia a los rangos de las especificaciones dadas por la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos.

CUADRO No. 1. RESULTADOS DEL CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO 2014

PARÁMETRO	RESULTADO %	ESPECIFICACIONES SEGÚN LA NEFT %
Determinación de humedad	8,06	8-14
Determinación de cenizas	9,37	Hasta 12
Determinación de cenizas solubles en agua	5,23	Hasta 7
Determinación de cenizas insolubles en ácido	4,59	Hasta 5

Los resultados obtenidos en el cuadro No. 1 están dentro del límite establecido por la Noma Ecuatoriana de Fitomedicamentos (2001). Lo cual pone en evidencia la buena calidad de la materia prima pues sus parámetros físico químicos están bien.

3.2 TAMIZAJE FITOQUIMICO REALIZADO AL VEGETAL

El “screening” fitoquímico o tamizaje fitoquímico nos permite evidenciar cualitativamente los principales metabolitos secundarios que posee la planta, esta determinación es rápida, reproducible, se realiza con solventes adecuados, mediante la aplicación de reacciones sensibles de color y precipitado.

CUADRO No. 2. RESULTADOS DE ANÁLISIS CUALITATIVO (TAMIZAJE FITOQUÍMICO) BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2014

METABOLITO SECUNDARIO DETERMINADO	PRUEBA	EXTRACTO ETEREO	EXTRACTO ALCOHOLICO	EXTRACTO ACUOSO
Alcaloides	Dragendorff	(-)	(++)	(-)
	Mayer	(-)	(+)	(+)
	Wagner	(-)	(+)	(+)
Flavonoides	Shinoda		(+)	
Taninos y fenoles	Cloruro férrico		(+)	(++)
Saponinas	Espuma		(-)	(++)
Triterpenos y esteroides	Liberman-buchard	(++)	(+)	
Azúcares reductores	Fehling		(+)	(+)
Compuestos grasos	Sudan III	(-)		
Quinonas	Borntrager		(-)	
Cumarinas	Baljet	(-)	(-)	
Catequinas	Catequinas		(-)	
Resinas	Resinas		(-)	
Mucilagos	Mucilagos			(-)
Flavonoides	Antocianidinas		(-)	

(-) SIN EVIDENCIA, (+) BAJA EVIDENCIA, (++) MODERADA EVIDENCIA, (+++) ALTA EVIDENCIA.

Se realizaron los extractos en distintos solventes para obtener la mayor cantidad de metabolitos que contenga el vegetal seco, pues los metabolitos tienen distinta polaridad. Los solventes utilizados fueron el éter, alcohol etílico al 96% y agua destilada, el éter dietílico al ponerse en contacto con la droga absorbe o extrae compuestos apolares o liposolubles, el alcohol etílico al 96% extrae a los metabolitos con mediana polaridad mientras que el agua va a extraer los compuestos más hidrofílicos así tenemos a los taninos que son solubles en agua pero insolubles en alcohol.

Como resultado del análisis fitoquímico según el cuadro N°- 2 se tuvo que esta droga contiene los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, taninos, saponinas, siendo estos los más evidentes según lo reportado por ALONSO, J. 2004

Mientras que en menor cantidad compuestos triterpénicos, alcaloides y azúcares. Todos estos fueron encontrados en el extracto alcohólico y acuoso.

Los flavonoides como se pudo evidenciar en el cuadro N°- 2 se encuentran en el extracto alcohólico estos tienen la propiedad de desinflamar y evitar la infección bacteriana.

Los taninos se encuentran en el extracto acuoso y una de sus principales propiedades medicinales es la cicatrización de heridas.

3.3 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*).

El control de calidad se realizó sobre el extracto hidroalcohólico de los tallos y hojas de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) mediante la maceración con alcohol al 40% durante siete días.

3.3.1 DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO.

CUADRO No. 3. ANÁLISIS ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. ABRIL 2014

PARÁMETRO	RESULTADO
Aspecto	Líquido, Fluido
Olor	Herbal
Color	Café claro
Sabor	Amargo

En el cuadro N°-3 nos presenta las características organolépticas del extracto de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*), este al ser analizado se obtuvo que es de aspecto líquido, fluido de color café claro un color agradable a la vista, de sabor amargo, y un olor a hierbas desagradable.

3.3.2 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

CUADRO No. 4. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCOAS. ESPOCH. ABRIL 2014

PARÁMETRO	VALOR
Ph	6,59
Densidad relativa	0,9501 g/ml
Índice de refracción	1.343
Sólidos totales	4.2 %

En el cuadro No. 4 se puede evidenciar que el extracto hidroalcohólico posee los siguientes parámetros físicos, así tenemos un pH de 6.59 esto nos dice que el extracto es poco ácido por lo cual no puede causar problemas a la piel pues es de un pH

similar. El índice de refracción fue de 1.343 este resultado comparándolo con el índice de refracción del agua 1.333 es mayor lo cual nos dice que hay la presencia de sustancias disueltas. La densidad relativa fue de 0.951 g/ml esta densidad al compararle con la del solvente empleado en nuestro caso que fue el alcohol al 40 % cuya densidad es de 0,789 g/ml, esto nos dice que la densidad del extracto es mayor a la del solvente, lo cual nos indica que hay sustancias disueltas en el extracto.

La cantidad de solidos totales fue de 2,2 %, esto nos permite determinar cuánto más o menos de sales o residuos orgánicos se encuentran en el extracto en este caso nos indica que hay una gran cantidad de sólidos disueltos en el extracto.

3.4 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

A través del método cromatográfico de capa fina (TLC), podemos determinar los compuestos que posiblemente estén disueltos en el extracto.

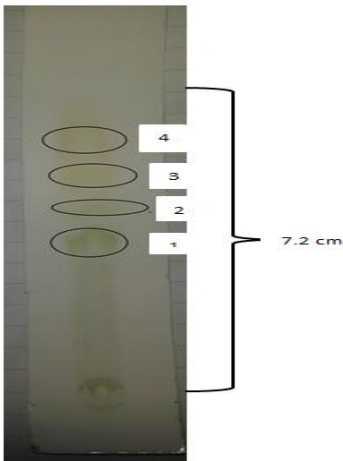
	Manchas observadas	Cálculo Rf	Compuesto
	1	$Rf = 3,7 / 7,2 = 0,51$	Isómeros de Piperina
	2	$Rf = 4,6 / 7,2 = 0,64$	Quercetina
	3	$Rf = 5,4 / 7,2 = 0,75$	Burseina
	4	$Rf = 6,3 / 7,2 = 0,88$	Kaempferol

FIGURA No. 7 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

Como podemos evidenciar en el cuadro N°-5 en el análisis cromatográfico calculando los R_f y según Wagner tenemos que la bolsa de pastor posee flavonoides como Quercetina y Kaempferol, además posee alcaloides como Piperina y Bursina, lo cual confirma lo expuesto según el análisis cromatográfico de Wagner.

3.5 CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES (MÉTODO DEL AlCl₃)

En el ANEXO No. 1, se puede evidenciar las concentraciones y absorbancias que fueron determinadas por espectroscopia ultra violeta, para elaborar la curva de calibración para lo cual se usó a la catequina como patrón a una longitud de onda de 510 nm para determinar flavonoides totales del extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor los resultados se indican a continuación:

CUADRO No. 5. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADOS EN µg DE CATEQUINA/ g DE MUESTRA EN EL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*). LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

Muestra	Absorbancia	Concentración en ppm (µg de catequina/ml de extracto)	Contenido de flavonoides totales expresados en µg de catequina por g de muestra
Extracto Hidroalcohólico	0,257	23,36	25

En el cuadro No. 5 se observa el contenido de flavonoides totales en la Bolsa de Pastor (*Capsella bursa-pastoris*) en función de la catequina reportó un valor de 25 µg de catequina por cada g de droga cruda.

3.6 CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS (MICROMÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEAU)

En el ANEXO No. 2, se pueden evidenciar las concentraciones usadas y las absorbancias obtenidas para elaborar la curva de calibración usando como patrón al Ácido gálico medido a una longitud de onda de 765nm mediante el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados obtenidos para calcular los compuestos fenólicos de la droga cruda fueron:

CUADRO No. 6. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EXPRESADOS EN μg DE ÁCIDO GÁLICO/ g DE MUESTRA EN EL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*). LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MAYO 2014.

Muestra	Absorbancia	Concentración en ppm (μg de Ácido Gálico/ml de extracto)	Contenido de Compuestos Fenólicos Totales expresados en μg de Ácido Gálico por g de Muestra
Extracto Hidroalcohólico	0,577	481,75	510

En el Cuadro No. 6 la Bolsa de Pastor (*Capsella bursa-pastoris*) reportó para compuestos fenólicos totales un valor de 510 $\mu\text{g/g}$ de muestra reportados en función de μg de Ácido Gálico por gramo de droga cruda. Este resultado pone en evidencia la buena actividad cicatrizante que presenta pues estos presentan esta actividad biológica.

3.7 EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) EN RATONES (*Mus musculus*).

Se evaluó la actividad cicatrizante del extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*), administrando distintos tratamientos a los cuales se les asignó los siguientes códigos:

GCN: Grupo Control Negativo, solo se le realizaron las heridas sin tratamiento

GCL: Grupo Control Positivo, aplicación de la crema Lamoderm sobre la herida.

GCE: Grupo Control Positivo, aplicación del eterol sobre la herida.

GCA: Grupo Control Positivo, aplicación del alcohol sobre la herida.

GEC1: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólicos 20%

GEC2: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólicos 40%

GEC3: Grupo Experimental Extracto hidroalcohólicos 80%

3.7.1 TIEMPO DE CICATRIZACIÓN

CUADRO No. 7. ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) EN RATONES EVALUADO MEDIANTE LOS DÍAS DE CICATRIZACIÓN DE CADA UNO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014

TIEMPO DE CICATRIZACIÓN DE LA HERIDA EN DÍAS		
TRATAMIENTO	GRUPOS	Media
1	GCN	15,67 ± 0,58
2	GCL	11,67 ± 0,58
3	GCE	13,67 ± 0,58
4	GCA	13,67 ± 0,58
5	GEC1	13,67 ± 0,58
6	GEC2	13 ± 0
7	GEC3	10.33± 0,58

En el cuadro No. 7 se observan los resultados que al tratamiento con mayor efecto cicatrizante es el grupo que se les aplicó el extracto hidroalcohólico de Bolsa de Pastor (*Capsella bursa-pastoris*) al 80%, seguida del extracto al 40% que duro 10 días en cicatrizar. Esto pone en evidencia que el extracto al poseer un alto contenido de taninos poseen un buen efecto cicatrizante; posteriormente a estos extractos se encuentra la crema Lamoderm con 11 días, seguido del extracto al 20%, el eterol y el extracto alcohólico se encuentran en la siguiente posición con 13 días de cicatrización y por último el grupo control negativo al cual no se le aplico tratamiento alguno y demoro 15 días en cicatrizar.

Los datos obtenidos se pueden deber a los componentes que tiene la bolsa de pastor destacándose entre ellos los flavonoides que tienen la capacidad antiinflamatoria y los taninos que le dan a la bolsa de pastor esa propiedad cicatrizante que posee sobre todo el extracto al 80%.

Al momento de realizarles las pruebas de irritabilidad con los extractos en distintas concentraciones no se observó ninguna alteración en los distintos grupos a los cuales se les sometió a la prueba por lo cual se cataloga a los extractos no ser irritantes para la piel.

3.7.2 VARIACIÓN DE LAS LONGITUDES DE LAS HERIDAS LUEGO DE APLICADO EL TRATAMIENTO

CUADRO No. 8. ACTIVIDAD CICATRIZANTE DEL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) EN RATONES EVALUADO MEDIANTE TOMANDO EN CONSIDERACIÓN LAS LONGITUDES DE LAS CICATRICES DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014

LONGITUDES DE LAS CICATRICES SEGÚN EL TRATAMIENTO APLICADO.		
TRATAMIENTO	GRUPOS	Media
1	GCN	1,86 ± 0,58
2	GCL	1,63 ± 0,58
3	GCE	1,73 ± 0,58
4	GCA	1,77 ± 0,58
5	GEC1	1,77 ± 0,58
6	GEC2	1,67 ± 0,58
7	GEC3	1.33± 0,58

Según el cuadro No. 8 se puede evidenciar los tratamientos aplicados para la investigación así como también las longitudes finales luego de aplicar dichos tratamientos, lo cual pone en evidencia que el tratamiento que deje una cicatriz más pequeña es el grupo al cual se le administro el extracto al 80% por lo que este extracto es de mayor eficacia pues es el que deja la cicatriz más pequeña en comparación con los otros tratamientos.

3.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS

El análisis estadístico se realizó en el programa estadístico SPSS el cual nos permite realizar el análisis las medias de un grupo a otro mediante el test Anova y Tukey con un nivel de significancia de $p < 0.05$

3.8.1 ANOVA de un Factor PARA LOS DIAS DE CICATRIZACIÓN

CUADRO No. 9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS AL APLICARLE LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS TOMANDO EN CONSIDERACIÓN LOS DÍAS DE CICATRIZACIÓN. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.

ANOVA de un factor					
DÍAS					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	51,810	6	8,635	30,222	,000
Intra-grupos	4,000	14	,286		
Total	55,810	20			

En el cuadro No. 9 nos muestra el test ANOVA de un factor, analizando este cuadro y con un nivel de significancia de 0,05 decimos que p es menor que 0,05 con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa puntualizando que al menos 2 de los tratamientos aplicados en el experimento son diferentes.

CUADRO No. 10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS AL APLICAR LOS TRATAMIENTOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES TOMANDO EN CONSIDERACIÓN LOS DÍAS QUE DEMORO EN CICATRIZAR CADA TRATAMIENTO MEDIANTE EL TEST DE TUKEY. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.

DÍAS					
HSD de Tukey					
TRATAMIENT O	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
7,00	3	10,3333			
2,00	3	11,6667	11,6667		
6,00	3		13,0000	13,0000	
3,00	3			13,6667	
4,00	3			13,6667	
5,00	3			13,6667	
1,00	3				15,6667
Sig.		,094	,094	,726	1,000
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.					
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.					

En el cuadro No. 10. Nos muestra el test de Tukey con un nivel de significancia de 0,05 el cual nos dice claramente que el grupo aleatorio 7 que es el grupo con el tratamiento del extracto al 80% presenta un mayor efecto cicatrizante pues se tardó en cicatrizar tan solo 10,33 días en promedio, seguido por uno de los grupos control positivo LAMODERM con 11,6 días de cicatrización, tan solo estos grupos presentan un comportamiento individualizado de días de cicatrización los grupos 3, 4, 5 de tratamiento establecen un solo grupo homogéneo con la mismo efecto cicatrizante. Quedando al final el grupo 1 ó control negativo pues a este no se le aplico ningún tratamiento

Según la media de los grupos en estudio nos indica que el grupo aleatorio experimental 7 que corresponde al extracto hidroalcohólico al 80%, tiene similar actividad cicatrizante comparado con el grupo aleatorio positivo LAMODERM.



GRÁFICO No. 1. REPRESENTACIÓN DEL PROMEDIO DE LOS DÍAS DE CICATRIZACIÓN CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS APLICADOS. FACULTAD DE CIENCIAS ESPOCH. JUNIO 2014

En el gráfico No. 1. Se representa en barras los días que tardaron en cicatrizar las heridas según el tratamiento recibido, en la cual el eje de las abscisas contienen el tipo de tratamiento aplicado y en el eje de las ordenadas el tiempo en días que tardó en cicatrizar la herida, en el cual se puede evidenciar que el tratamiento con mejor resultado es el extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor en una concentración del 80%, pues esta tardo 10 días aproximadamente en cicatrizar las heridas producidas, esto se debe a los compuestos que contiene la droga como son flavonoides y los taninos.

3.8.2 ANOVA de un Factor PARA LAS LONGITUDES DE LAS CICATRICES

CUADRO No. 11. ANÁLISIS ESTADISTICO REALIZADO A LOS RESULTADOS AL APLICAR LOS TRATAMIENTOS EN LOS GRUPOS EXPERIMENTALES MIDIENDO LAS LONGITUDES DE LAS CICATRICES. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.

ANOVA de un factor					
LONGITUD					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,459	6	,077	22,952	,000
Intra-grupos	,047	14	,003		
Total	,506	20			

En el Cuadro No. 11 nos muestra el test ANOVA de un factor, analizando este cuadro y con un nivel de significancia de 0,05 decimos que p es menor que 0,05 con lo que se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa puntualizando que al menos 2 de los tratamientos aplicados en el experimento son diferentes.

CUADRO No. 12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN EL EFECTO FARMACOLÓGICO DEL EXTRACTO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) MIDIENDO LAS LONGITUDES DE LAS CICATRICES MEDIANTE EL TEST DE TUKEY. BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014.

LONGITUD				
HSD de Tukey				
TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
7,00	3	1,3667		
2,00	3		1,6333	
6,00	3		1,6667	
3,00	3		1,7333	1,7333
4,00	3		1,7667	1,7667
5,00	3		1,7667	1,7667
1,00	3			1,8667
Sig.		1,000	,137	,137
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.				
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.				

En el Cuadro No.12 observamos el test de Tukey con un nivel de significancia del 0.05.

Al analizar este test se puede evidenciar que el grupo con el tratamiento del extracto al 80% presenta una cicatriz más pequeña seguida del grupo tratado con Lamoderm, a continuación el grupo aleatorio 6 (extracto 40%), mientras que los grupos del eterol, extracto al 20% y alcohol al 40% tienen una longitud de cicatriz similar.

Según la media de los grupos nos dice que el grupo aleatorio 7 que es el extracto al 80%, tiene una cicatriz menor que la del grupo aleatorio positivo tratado con Lamoderm.

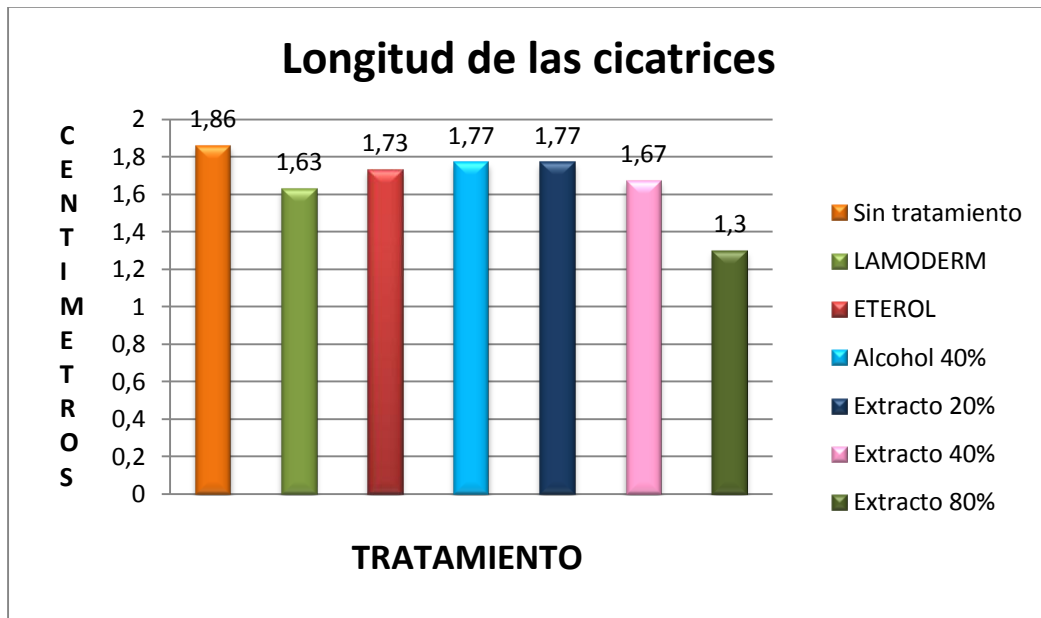


GRÁFICO No. 2. REPRESENTACIÓN DEL PROMEDIO DE LAS LONGITUDES DE LAS CICATRICES CON RESPECTO A LOS TRATAMIENTOS APLICADOS. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO 2014

En el gráfico No. 2. Se representa en barras las longitudes de las cicatrices según el tratamiento recibido, en la cual el eje de las abscisas contienen el tipo de tratamiento aplicado y en el eje de las ordenadas la longitud en centímetros de las cicatrices, en el cual se puede evidenciar que el tratamiento con mejor resultado es el extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor en una concentración del 80%, pues este tratamiento presenta una cicatriz de 1,33 cm, esto se debe a los taninos que posee la droga pues este compuesto tiende a comprimir o cerrar las heridas.

3.9 ANÁLISIS HISTOPATOLOGICO DE LAS PIELES DE LOS RATONES (*Mus musculus*)

Para este análisis se realizó cortes histopatológicos de las pieles de los ratones, específicamente de las áreas donde se encontraban las cicatrices, es decir del dorso del ratón representativo de cada grupo, luego se fijaron las placas en las instalaciones de SOLCA, para su posterior observación al microscopio para determinar el porcentaje de cicatrización.

CUADRO NO. 13. PROTOCOLO HISTOPATOLÓGICO DE LA PIEL DE RATONES (*MUS MUSCULUS*) A LOS CUALES SE ADMINISTRÓ EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*) BIOTERIO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO 2014.

CODIGO	EXÁMEN MACROSCOPICO	EXÁMEN MICROSCOPICO
L₁ MACHO (ETEROL)	Largo: 1.73 cm Ancho: 0,15 cm Profundidad: ninguna/superficial Color: blanco Aspecto: liso, algo agradable Forma/ trayectoria: longitudinal Herida Cerrado	Piel con epitelio escamoso, con tejido fibroso y en proceso de cicatrización de un 80%
L2 (Alcohol 40%)	Largo: 1.77 cm Ancho: 0,15 cm Color: Blanco Aspecto: Algo liso, algo agradable Forma/Trayecto: Longitudinal Profundidad: Ninguna/Superficial Herida cerrada	Piel con presencia de tejido de granulación, con un proceso de cicatrización del 60%
L3 MACHO (LAMODERM)	Largo: 1.63 cm Ancho: 0,15 cm Profundidad: ninguna/superficial Color: blanco Aspecto: liso, algo agradable Forma/ trayectoria: longitudinal Herida cerrada.	Piel con tejido fibroso con un proceso de cicatrización del 100%

<p>L₄ MACHO (CONTROL -)</p>	<p>Largo: 1,86 cm Ancho: 0,15 cm Profundidad: ninguna/superficial Color: blanco Aspecto: algo liso , algo desagradable Forma/ trayectoria: longitudinal Herida cerrada</p>	<p>Piel con presencia de tejido de granulación con un proceso de cicatrización en un 40%</p>
<p>M_{20%} (EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE <i>Capsella bursa-pastoris</i> AL 20%)</p>	<p>Largo: 1.77 cm Ancho: 0,15 cm Profundidad: ninguna/superficial Color: blanco Aspecto: algo liso, algo agradable Forma/ trayectoria: longitudinal Herida Cerrado</p>	<p>Piel con epitelio escamoso, con tejido fibroso y en proceso de cicatrización de un 80%</p>
<p>M_{40%} (EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE <i>Capsella bursa-pastoris</i> AL 40%)</p>	<p>Largo: 1.67 cm Ancho: 0,15 cm Profundidad: ninguna/superficial Color: blanco Aspecto: liso, algo agradable Forma/ trayectoria: longitudinal Herida Cerrado</p>	<p>Piel con tejido fibroso con un proceso de cicatrización del 100%</p>
<p>M_{80%} (EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DE <i>Capsella bursa-pastoris</i> AL 80%)</p>	<p>Largo: 1.3 cm Ancho: 0,15 cm Profundidad: ninguna/superficial Color: blanco Aspecto: liso, algo agradable Forma/ trayectoria: longitudinal Herida Cerrado</p>	<p>Piel con tejido fibroso con un proceso de cicatrización del 100%</p>

En el cuadro No. 13 nos indica el análisis microscópico y macroscópico que se realizó a zonas que contenían las cicatrices de las pieles de los animales de experimentación para determinar el grado de cicatrización de dichas pieles.

Dentro del análisis macroscópico se observó el largo de la cicatriz, ancho, profundidad, color, aspecto, forma y trayectoria de la herida.

El examen microscópico se presentó que los tratamientos con el extracto al 80%, LAMODERM, extracto al 40% presentaron tejido fibroso con un 100% de cicatrización, seguidas del tratamiento con ETEROL y el extracto al 20% con un 80% de cicatrización.

CAPÍTULO IV

4 CONCLUSIONES

1. La droga cruda de *Capsella bursa-pastoris* con una Humedad de 8,06%, Cenizas totales 9.37%, Cenizas solubles en agua 5. 23% y Cenizas insolubles en Ácido clorhídrico 4.59%, cumple con las especificaciones establecidas en la Norma Ecuatoriana de Fitomedicamentos.
2. El screening fitoquímico de los extractos realizados de Bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) se comprobó la presencia de metabolitos secundarios entre los que se encuentran: compuestos flavonoides, compuestos fenólicos, saponinas, alcaloides, azúcares reductores, compuestos triterpenicos y esteroides, siendo los de mayor importancia para el efecto cicatrizante los flavonoides y compuestos fenólicos.
3. Se demostró el efecto cicatrizante de la Bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) en heridas provocadas a ratones, en comparación con los controles positivos (Lamoderm, Eterol, Alcohol 40%). Evidenciándose un mayor efecto en el tratamiento con el extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor al 80%, al presentar un menor tiempo de cicatrización y una menor longitud de la cicatriz.
4. En el análisis macroscópico y microscópico de las pieles en estudio se evidenció que el extracto hidroalcohólico de bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*) a distintas concentraciones contribuye en la regeneración celular en comparación con los controles positivos menos efectivos.

CAPÍTULO V

5 RECOMENDACIONES

1. Se debe profundizar más las investigaciones sobre el efecto cicatrizante de la bolsa de pastor (*Capsella bursa-pastoris*), para poder elaborar fitofármacos con distintas presentaciones que sea accesible a la población.
2. Se debe realizar el estudio de cicatrización utilizando un vehículo similar al del control positivo, disminuyendo así la posibilidad de errores en los resultados debido este.

BIBLIOGRAFÍA

ABDO, Guadalupe., RIQUELME, Antonio. Las Aromáticas en la Huerta Orgánica. 2a ed. Buenos Aires- Argentina. AXIS. 2008, Pp. 27

AGUILERA, Hernán. Cicatrización. (Revista Chilena de Cirugía), Vol. 12, N° 23. Chile. pp. 361. Septiembre 2008

ALARCON, Paul. Las plantas medicinales y sus Flavonoides. 3ª ed. Lima-Perú. Revisat. 2009, Pp. 86

<http://www.diva-portal.org/sh/gt/diva2:171029/FULLTEXT01.pdf>
2014/07-12

ALONSO, Jorge. Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos, Rosario-Argentina. CORPUS. 2004, Pp. 230-232

ALVAREZ, José. Taninos la Revolución Etnológica. 2a ed. Quito- Ecuador. Panamericana. 2007, Pp. 204-236

ARIAS, Jaime. Fisiopatología Quirúrgica de las Heridas, Lima- Perú. Tébar. 1999, Pp. 320-336

ASPECTOS BIOÉTICOS DE LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL. Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica. 2009

<http://www.conicyt.cl/documentos/bioetica19nov.htm>
2014/06-35

BOLSA DE PASTOR. Asociación de Botánica del Perú. 2014

<http://www.asturnatura.com/especie/capsella-bursa-pastoris.html#usos-medicinales>
2014/07-03

CAMPOS, Gustavo. Plantas que Curan, Madrid- España. NEXUS. 2012, Pp. 13

CALNE, Zuine. Heridas de difícil cicatrización. 3a ed. Barcelona- España. EPT-Feridas. 2008, Pp. 161

CAÑIGUERAL, Salvador. Fitoterapia. (Revista de Fitoterapia), Vol. 2, N°2. España. Pp. 101-106. Febrero 2002

CAÑIGUERAL, Salvador y otros. Plantas Medicinales y Fitoterapia, Buenos Aires- Argentina. DEBAC. 2003, Pp. 265-276

CHOPRACK, David. El Poder de la Cicatrización, New York- Estados Unidos. Bloomington. 2012, Pp. 103-145

Consenso Sobre Cicatrización de Heridas. Sociedad Argentina de Dermatología. 2007

<http://apps.who.int/iris/handle/10665/67296#sthash.CEAfJ2V7.html>

2014/06-29

DESBRIDAMIENTO Y MANEJO DE HERIDAS INFECTADAS. PAEZ, Luis. 2003

<http://medicomoderno.blogspot.com>

2014/07-02

EL PROCESO DE CURACIÓN DE UNA HERIDA. LOPATEGUI, Edgar. 2012

<http://www.saludmed.com>

2014/06-25

ETEROL. Laboratorios Farmacéuticos Life. 2009

http://www.agrytec.com/pecuario/images/stories/auspiciantes.secundarios/Life/especie_peque/eterol.pdf

2014/07-03

ÉTICA DE LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL. PARDO, Antonio. 2005

<http://www.aebioetica.org/rtf/08-BIOETICA-58.html>

2014/07-05

FERNANDEZ, José y otros. Las Plantas Como Evidencia Legal, Bogotá- Colombia. Columbia. 2007, Pp. 181-198

Flavonoides. MARTINEZ, Alejandro. 2005

<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/flavonoides2001>

2014/07-05

FLAVONOIDES: PROPIEDADES Y ACCIONES ANTIOXIDANTES.

MARTINEZ, S. y otros. 2002

<http://www.consumoteca.com/bienestar-y-salud/flavonoides/principio-activo/>

2014/07-02

FORMAS FARMACÉUTICAS. Real Farmacopea Española. 2003

<http://www.ugr.es/~adolfina/asignaturas/formasfarmaceuticasRFE.html>

2014/07-13

GARCIA, Francisco. Familias Brasicaseas, Valencia- España. Renova. 2010, Pp. 12-14

GONZALES, Enrique. Mus musculus. 2a ed. Rosario-Uruguay. URUGUAY. 2011, Pp. 25

GUILLAMENT, Ana. Enfermería Quirúrgica. 2a ed. Barcelona- España. Springer. 1999, Pp. 36-67

HALL, Victoria. Plantas Medicinales. 3a ed. Murcia- España. Becerra. 2002, Pp. 56-79

HAYA, Francisco. Uso Practico de la Fitoterapia. 4a ed. Buenos Aires- Argentina. Medica Panamerina. 2006, Pp. 57

HERNANDEZ, Luis Santiago. Determinación del potencial nutraceutico y la actividad antioxidante de la miel propolizada elaborada por la empresa apicare, Riobamba-Chimborazo. (Tesis). (Bioq. Farm.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013, Pp. 132-134

HOOGESTEGER, Cornelio. Uso de Plantas Medicinales. 5a ed. Bogotá- Colombia. Árbol. 2013, Pp. 5-10

JARA, Alfredo. 40 Plantas Medicinales. 3a ed. Madrid- España. Fuenlabrada. 2006, Pp. 26

LAS PLANTAS COMO EVIDENCIA LEGAL. FERNANDEZ, Alonso. 2007
<http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos//pubinv/JLF/BOTForense-ACA2007.html>
2014/07-06

LAS PLANTAS MEDICINALES. HERNANDEZ, Alonso. 2008
http://web.uned.ac.cr/biocenosis/images/stories/articulosVol21/Biocenosis21_06.html
2014/07-03

LEYVA, Francisco. Heridas y Cicatrización en Enfermería. 4a ed. La Paz- Bolivia. Just in Time. 2012, Pp. 7, 25-28

MANEJO ADECUADO DE HERIDAS. GUTIERREZ, Luz. 2012
<http://www.pdfactory.com>
2014/06-29

MARTINEZ, Isabel., CASTILLO Encarna. Manuel de Fitoterapia, Barcelona-España. MASSON. 2007, Pp. 19, 25-30

MEDICAMENTOS PARA USO TÓPICO. RUIZ, Byron. 2011

<http://es.scribd.com/doc/51413957/MEDICAMENTOS-PARA-USO-TOPICO>

2014/06-26

MEDICINA TRADICIONAL. Organización Mundial de Botánicos. 2011

http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/67296/1/WHO_EDM_2002.4_spa.

2014/07-03

MONTES, Marco. Perspectivas de la Fisioterapia. 2a ed. Concepción-Chile. Guyot.

1990, Pp. 131, 135

MUÑOZ, Marisol. Evaluación de la actividad antiinflamatoria de extractos de Santa María (*Piper peltatum*) mediante el test de edema inducido en ratas (*Rattus norvegicus*). (Tesis). (Bioq. Farm.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2014, Pp. 33-47

OROZCO Mayra. Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de molle (*schinus molle*), cola de caballo (*equisetum arvense l.*), linaza (*linum usitatissimum l.*) en ratones (*mus musculus*). (Tesis). (Bioq. Farm.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2012, Pp. 1-70

PAMPLONA, Jorge. Salud por las Plantas Medicinales, Madrid- España. Safeliz.

2006, Pp. 12

PAUCAR, Jorge. Plantas Medicinales. 3a ed. Bogotá- Colombia. Elciever. 2013, Pp. 67-78

http://www.latamjpharm.org/trabajos/9/2/LAJOP_9_2_4_1_TPMZ6ELAJ9.pdf

2014/07-13

PUELLES, María. Plantas Medicinales del Perú. 3a ed. Mérida- México. Arán.

2010, Pp. 45-89

QUIROZ, Ruth. Evaluación de la actividad cicatrizante de un gel elaborado a base de los extractos de nogal (*Juglans neotrópica Diels*), ortiga (*Urtica dioica L.*), sábila (*Aloe vera*), en ratones (*Mus musculus*). (Tesis). (Bioq. Farm.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2012, Pp. 1-99

RAMIREZ, German. Fisiología de la Cicatrización. 2a ed. Bogotá- Colombia. Neiva. 2010, Pp. 69-78

REDROVAN, Karina. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*). (Tesis). (Bioq. Farm.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2012, Pp. 1-32

REINALDO, Inés. Flavonoides características Químicas y Aplicaciones. (Revista Científica Latinoamericana). Vol. 22, N° 2. Cuba. Pp.5-7, 9-11, Mayo 2011

RIOFRIO, Katy. Evaluación del efecto ansiolítico del extracto hidroalcohólico de flor de taxo (*Passiflora tripartita* var. Mollissima) EN RATONES (*Mus musculus*). (Tesis). (Bioq. Farm.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. 2014, Pp. 53-64

ROBALINO, Cristina. Evaluación del efecto antidiarréico y cicatrizante de la infusión y del extracto etanólico de *Cyclospermum leptophyllum* (Pers.) Sprague en ratones (*Mus musculus*) y conejos (*Oryctologus cuniculus*). (Tesis). (Bioq. Far.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2014, Pp. 51-68

SANTAMARIA, Eliana. Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólicos de malva (*Malva sylvestris L.*) y aguacate (*P. americana*) en ratones (*Mus musculus*). (Tesis). (Bioq. Far.). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia. Riobamba-Ecuador. 2013, Pp. 1-33

SHULL, Amer. Capsella Medik, Caracas-Venezuela. Proconvet. 2010, Pp. 110-125
http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/04_072_38_Capsella.pdf
2014/06-23

TANJA , A. Evolución de las Inflorescencias de *Capsella bursa-pastoris*. 2a ed. Barcelona – España. Slote. 2009, Pp. 456-490

TEMISTOCLES, Fernando. Manual de Patología Medica y Fitoterapia, Adrados-España. Amabar. 2000, Pp. 5-34

TRABAJO CON ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales de España. 2003
https://www5.uva.es/guia_docente/uploads/2013/470/45820/1/Documento48.html
2014/06.29

TRISTAN, Antonio. La cicatrización. (Revista médico-quirúrgica), Vol. 2, N°13. Argentina. Pp. 136. Agosto 2009

VANACLOTACH, Bernart., CAÑIGUERAL, Salvador. Fisioterapia de prescripción. 4a ed. Valencia- España. VBCS. 2012, Pp. 2



CAPÍTULO VI

6 ANEXOS

ANEXO No. 1 ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE CATEQUINA COMO PATRÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES.

CUADRO No. 14. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES USANDO CATEQUINA COMO PATRÓN EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60, 80 Y 100 PPM. LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DEL 2013.

Concentración (ppm)	Absorbancia a 510 nm
20	0,222
40	0,435
60	0,647
80	0,860
100	1,073

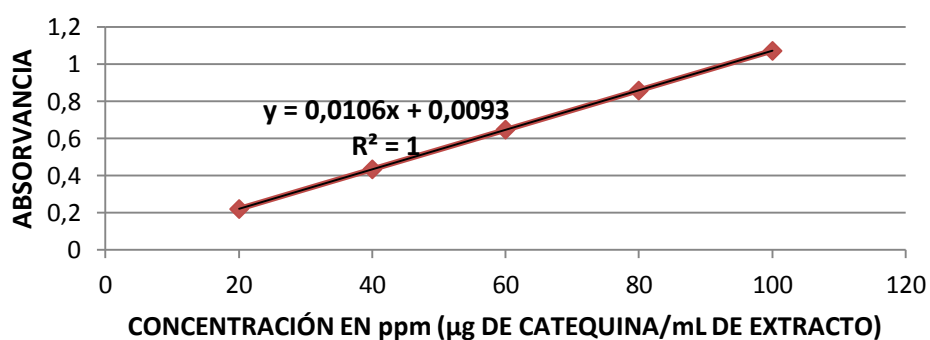


GRÁFICO No. 3. CURVA DE ABSORVANCIA VS CONCENTRACIÓN DE RUTINA EN CONCENTRACIONES DE 20, 40, 60, 80 Y 100 PPM, PARA LA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES. LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. SEPTIEMBRE DEL 2013.

ANEXO No. 2 ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ÁCIDO GÁLICO COMO PATRÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS.

CUADRO No. 15. CURVA DE CALIBRACIÓN PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES USANDO ÁCIDO GÁLICO COMO PATRÓN EN CONCENTRACIONES DE 500, 800, 1 100, 1 400, 1 700 Y 2 000 PPM. LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2013.

Concentración (ppm)	Absorbancia a 765 nm
500	0,558
800	0,819
1 100	1,055
1 400	1,287
1 700	1,476
2 000	1,735

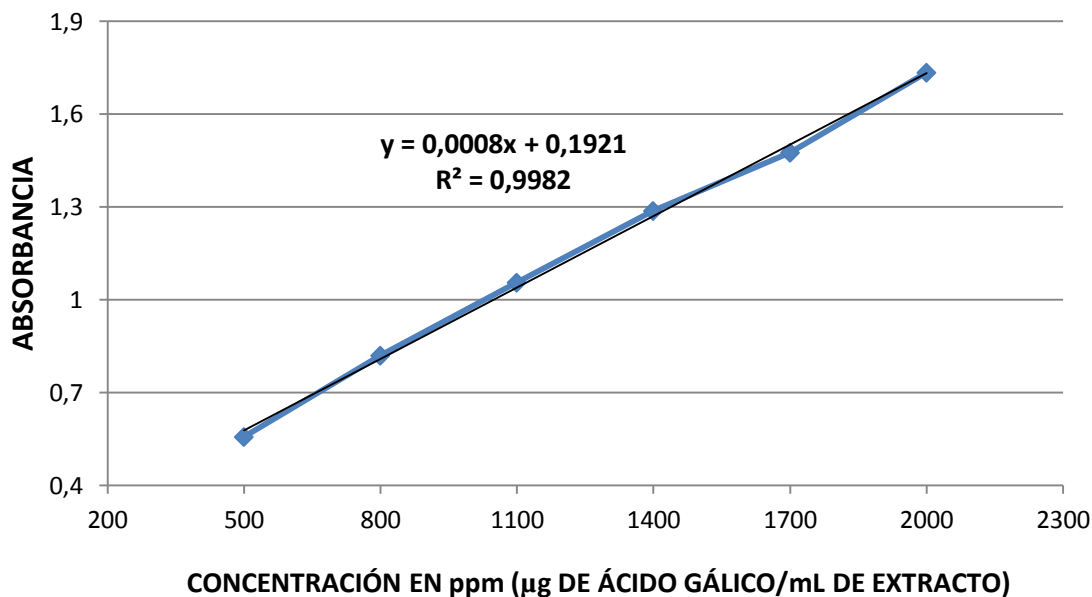


GRÁFICO No. 4. CURVA DE ABSORBANCIA VS CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO GÁLICO EN CONCENTRACIONES DE 500, 800, 1 100, 1 400, 1 700 Y 2 000 PPM PARA LA CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES. LABORATORIO DE QUÍMICA INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2013.

ANEXO No. 3. REACCION DE FOLIN-CICATEAUL

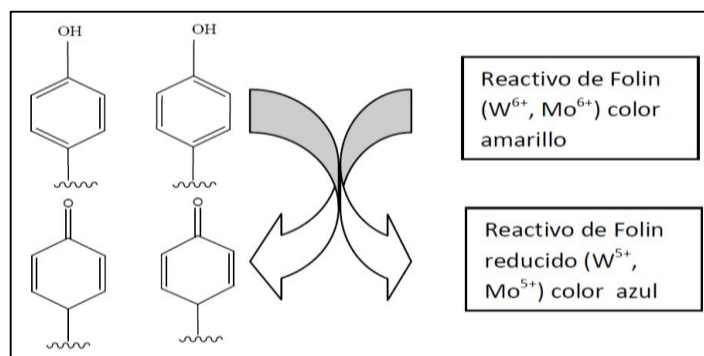
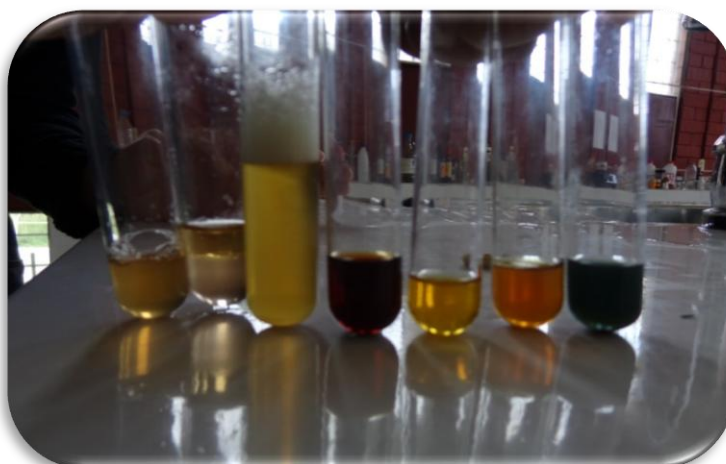


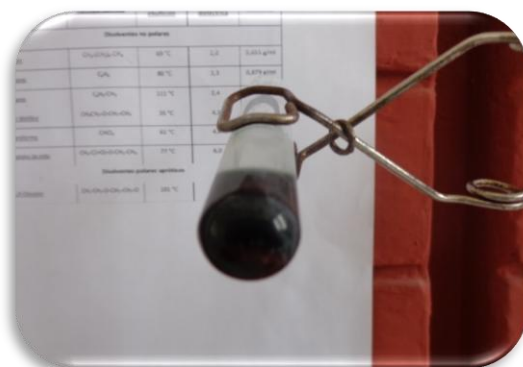
FIGURA No. 8 REACCIÓN DE FOLIN-CIOCALTEAU.

ANEXO No. 4. TAMIZAJE FITOQUIMICO DE LOS EXTRACTOS DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-pastoris*)

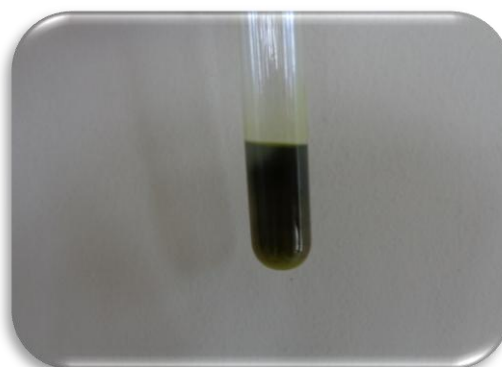


FOTOGRAFIA No. 1 PRUEBAS DEL TAMIZAJE FITOQUÍMICO

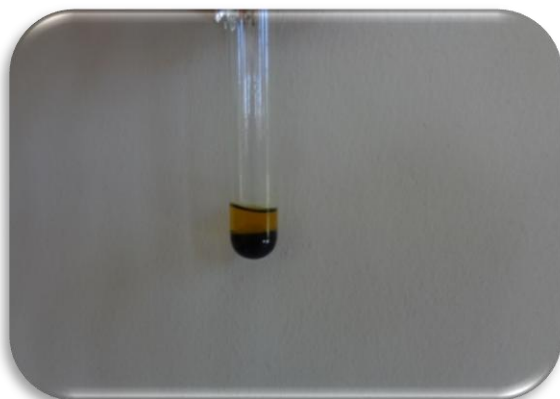
EXTRACTO ALCOHOLICO:



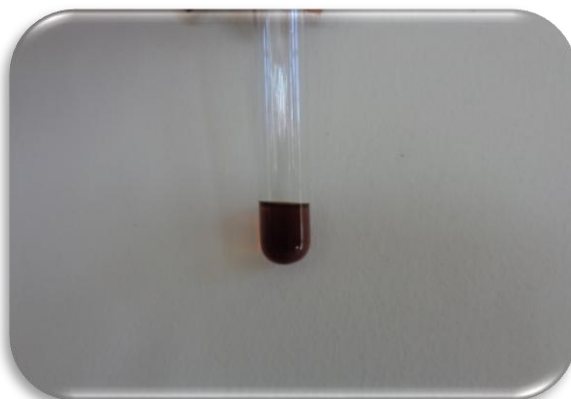
FOTOGRAFIA No. 2 PRUEBA DE FEHLING



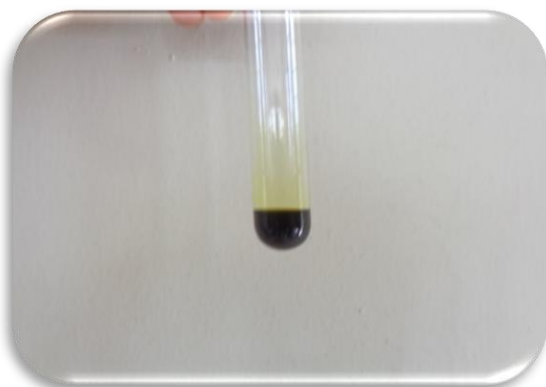
FOTOGRAFÍA No. 3 PRUEBA DE BALJET



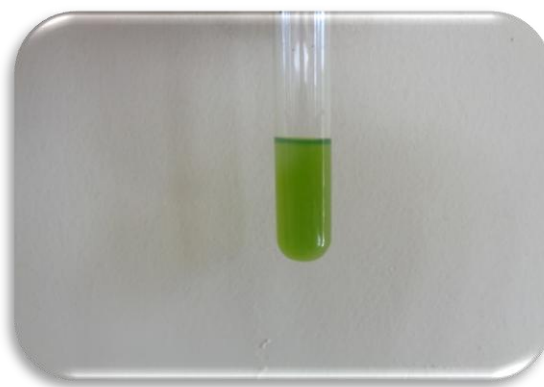
FOTOGRAFIA No. 4 PRUEBA DE BORNTAGER



FOTOGRAFIA No. 5 PRUEBA DE L-BUCHARD



FOTOGRAFIA No. 6 PRUEBA DEL FeCl_3



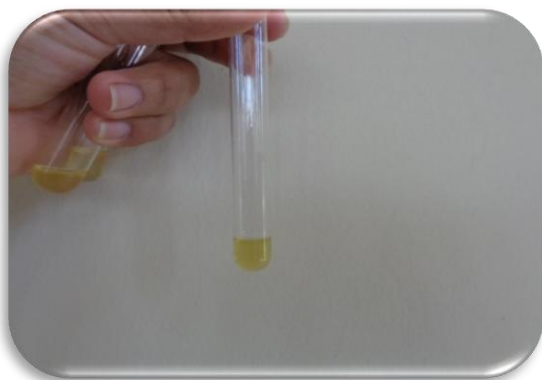
FOTOGRAFIA No. 7 PRUEBA DE SAPONINAS



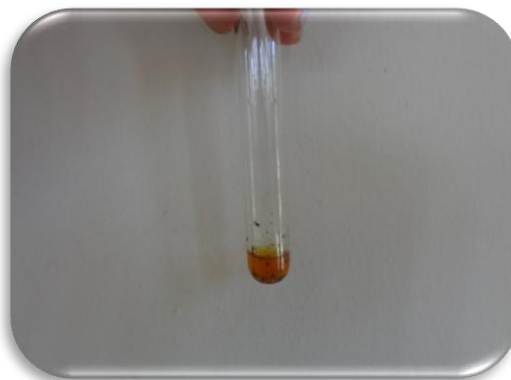
FOTOGRAFIA No. 8 PRUEBA DE SHINODA



FOTOGRAFÍA No. 9 PRUEBA DE DRAGENDORFF



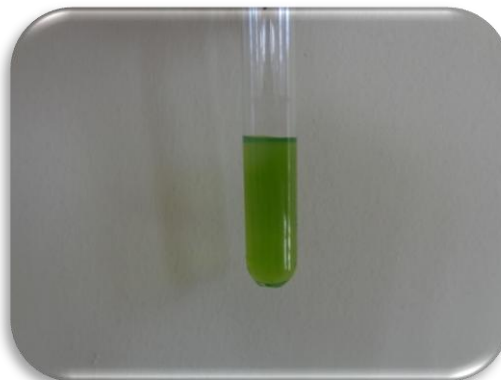
FOTOGRAFÍA No. 10 PRUEBA DE MAYER



FOTOGRAFÍA No. 11 PRUEBA DE WAGNER



**FOTOGRAFIA No. 12 PRUEBA DE
CATEQUINAS**



FOTOGRAFIA No. 13 PRUEBA DE RESINAS

EXTRACTO ACUOSO



**FOTOGRAFIA No. 14 PRUEBA DEL FeCl_3 EN
EL EXTRACTO ACUOSO**



**FOTOGRAFÍA No. 15 PRUEBA DE
DRAGENDORFF EN
EL EXTRACTO
ACUOSO**



**FOTOGRAFÍA No. 16 PRUEBA DE MAYER EN
EL EXTRACTO ACUOSO**



**FOTOGRAFÍA NO. 17 PRUEBA DE WAGNER
EN EL EXTRACTO ACUOSO**



**FOTOGRAFÍA No. 18 PRUEBA DE SAPONINAS
EN EL EXTRACTO ACUOSO**



**FOTOGRAFÍA No. 19 PRUEBA DE FEHLING
EN EL EXTRACTO ACUOSO**



**FOTOGRAFÍA No. 20 PRUEBA DE SHINODA
EN EL EXTRACTO ACUOSO**

**ANEXO No. 5. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE BOLSA DE PASTOR (*Capsella bursa-
pastoris*)**



FOTOGRAFÍA No. 21 DETERMINACIÓN DEL Ph



**FOTOGRAFÍA No. 22 DETERMINACIÓN DEL
INDICE DE REFRACCIÓN**



**FOTOGRAFÍA No. 23 DETERMINACIÓN DE
LA DENSIDAD**



**FOTOGRAFÍA No. 24 DETERMINACIÓN DE
SÓLIDOS TOTALES**

ANEXO No. 6. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEAU.



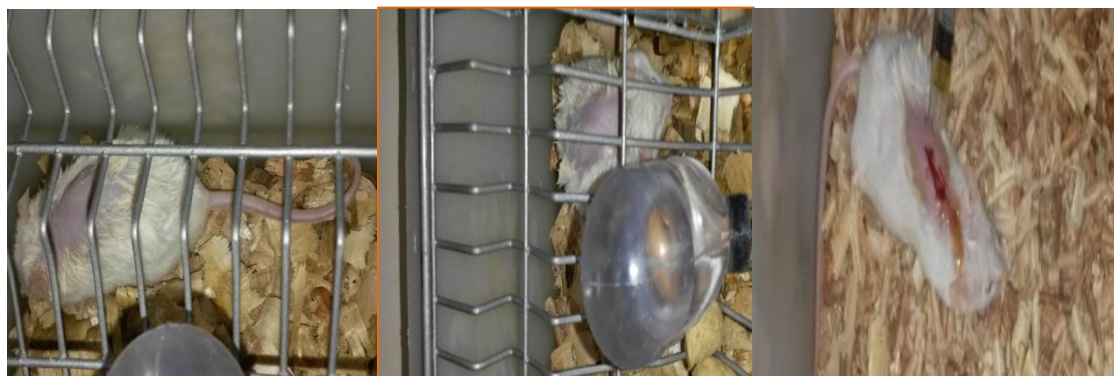
FOTOGRAFÍA No. 25 PROCEDIMIENTO PARA REACCIÓN DE COLORACIÓN (FOLIN-CIOCALTEAU) PARA SU POSTERIOR LECTURA AL ESPECTOFOTOMETRO

EXO No. 7. CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES MÉTODO DEL AlCl_3



FOTOGRAFÍA NO. 26 PROCEDIMIENTO PARA LA REACCIÓN DE COLORACIÓN (AlCl_3) PARA SU POSTERIOR LECTURA AL ESPECTOFOTOMETRO

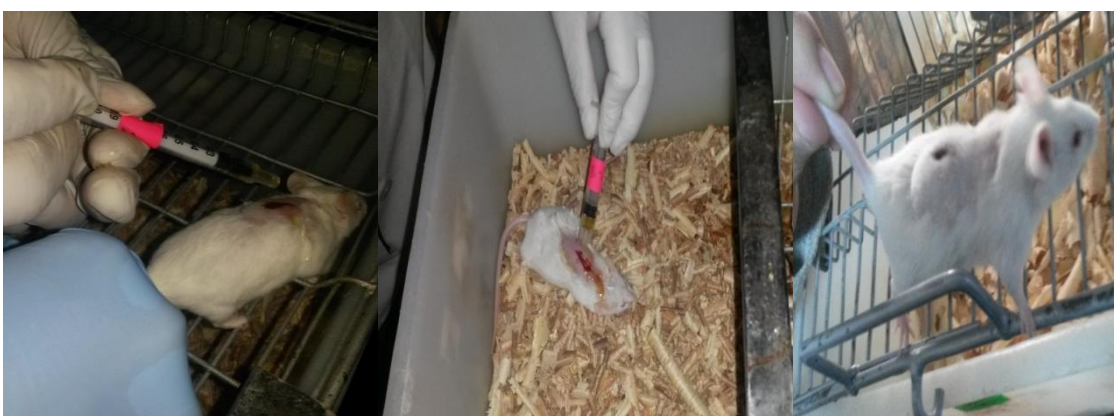
ANEXO No. 8 ACTIVIDAD CICATRIZANTE



FOTOGRAFÍA NO. 27 RASURADA DEL AREA DORSAL DEL RATÓN Y REALIZACIÓN DE LAS HERIDAS EN DICHA ZONA

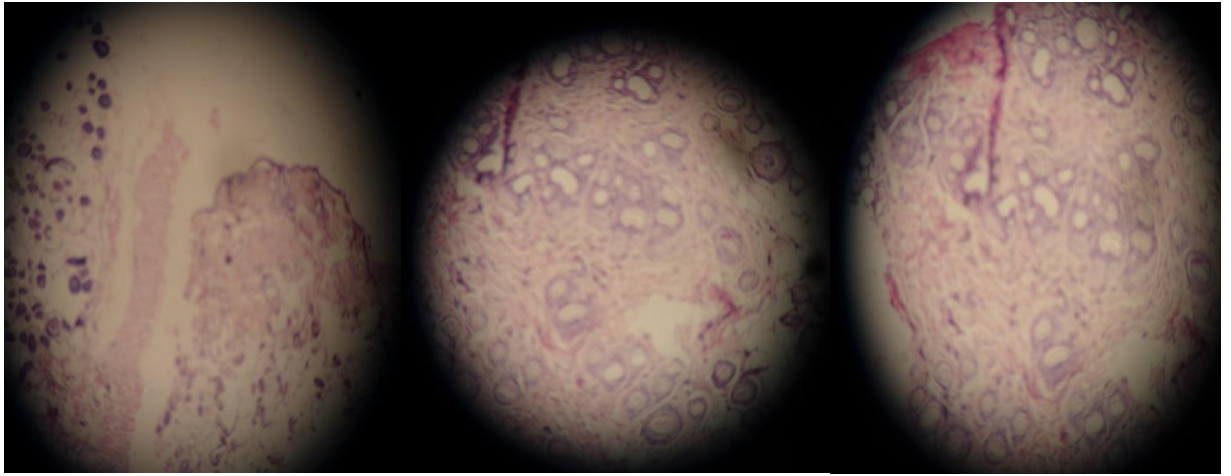


FOTOGRAFIA No. 28. DILUCIÓN DEL EXTRACTO MADRE Y PREPARACIÓN DE LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS A APLICAR



FOTOGRAFÍA No. 29. APLICACIÓN DE TRATAMIENTO VÍA TÓPICA Y SU POSTERIOR CICATRIZACIÓN

ANEXO No. 9 ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO



FOTOGRAFÍA No. 30 VISTA AL MICROSCOPIO DE LAS PIELES TRATADAS CON LOS EXTRACTOS AL 20%, 40%, 80% RESPECTIVAMENTE.